

# ВОЈНОСАНИТЕТСКИ ПРЕГЛЕД



*Часопис лекара и фармацеутика Војске Србије*

*Military Medical and Pharmaceutical Journal of Serbia*

## *Vojnosanitetski pregled*

Vojnosanit Pregl 2008 September vol. 65 (No. 9): pp. 659-724.

---

---



# ВОЈНОСАНИТЕТСКИ ПРЕГЛЕД

Први број *Војносанитетског прегледа* изашао је септембра месеца 1944. године

Часопис наставља традицију *Војно-санитетског гласника*, који је излазио од 1930. до 1941. године

## ИЗДАВАЧ

Управа за здравство Сектора за материјалне ресурсе МО Србије

### ИЗДАВАЧКИ САВЕТ

Савет за издавачку делатност УЗ СМР МО  
Доц. др **Вељко Тодоровић**, бригадни генерал (председник)

### УРЕЂИВАЧКИ САВЕТ

проф. др sc. med. **Бранко Глигић**, пук.  
проф. др sc. med. **Миодраг Јевтић**, генерал-мајор  
др **Мирослав Радовановић**, пук.  
проф. др sc. med. **Небојша Станковић**, пук.  
доц. др sc. med. **Вељко Тодоровић**, бригадни генерал  
доц. др sc. med. **Никола Филиповић**, пук.

### МЕЂУНАРОДНИ УРЕЂИВАЧКИ ОДБОР

Prof. **Andrej Aleksandrov** (Russia)  
Assoc. Prof. **Kiyoshi Ameno** (Japan)  
Prof. **Rocco Bellantone** (Italy)  
Prof. **Hanoch Hod** (Israel)  
Prof. **Abu-Elmagd Kareem** (USA)  
Prof. **Hiroshi Kinoshita** (Japan)  
Prof. **Celestino Pio Lombardi** (Italy)  
Prof. **Philippe Morel** (Switzerland)  
Prof. **Kiyotaka Okuno** (Japan)  
Assoc. Prof. **Branislav Radovančević** (USA)  
Prof. **Stane Repše** (Slovenia)  
Prof. **Mitchell B. Sheinkop** (USA)  
Prof. **Hitoshi Shiozaki** (Japan)  
Prof. **H. Ralph Schumacher** (USA)  
Prof. **Miodrag Stojković** (UK)  
Assist. Prof. **Tibor Tot** (Sweden)

### УРЕЂИВАЧКИ ОДБОР

Главни и одговорни уредник  
проф. др sc. pharm. **Силва Добрић**

### Уредници:

проф. др sc. med. **Бела Балинт**  
проф. др sc. med. **Дубравко Боковић**  
доц. др sc. med. **Драган Динчић**, пук.  
доц. др sc. med. **Бранка Ђуровић**  
проф. др sc. med. **Мирјана Животић-Вановић**  
проф. др sc. med. **Небојша Јовић**, пук.  
академик **Владимир Кањух**  
академик **Владимир Костић**  
проф. др sc. med. **Ђоко Максић**, пук.  
доц. др sc. med. **Гордана Мандић-Гајић**  
проф. др sc. stom. **Марјан Марјановић**, пук. у пензији  
академик **Миодраг Остојић**  
проф. др sc. med. **Љиљана Павлица**  
академик **Сава Перовић**  
проф. др sc. med. **Предраг Пешко**, FACS  
проф. др sc. med. **Ранко Ранчевић**, пук.  
проф. др sc. med. **Зоран Рогановић**, пук.  
проф. др sc. med. **Војкан Станић**, пук.  
доц. др sc. med. **Дара Стефановић**  
проф. др sc. stom. **Љубомир Тодоровић**  
доц. др sc. med. **Снежана Церовић**  
проф. др sc. psych. **Миланко Чабаркапа**  
академик **Миодраг Чолић**, пук.  
академик **Радоје Чоловић**  
проф. др sc. med. **Владимир Тук**  
доц. др sc. med. **Весна Шуљагић**

Технички секретар уређивачког одбора  
др Маја Марковић

### РЕДАКЦИЈА

mg sc. med. др Соња Андрић-Кривокућа, др Снежана  
Јанковић, др Маја Марковић, mg sc. Александра Гогић

Технички уредник: Милан Перовановић

Редактор за српски и енглески језик:

Драгана Мучибабић, проф.

Коректор: Саша Милошевић

Компјутерско-графичка обрада:

Светлана Стајић, Весна Тотић, Јелена Васил



Адреса редакције: Војномедицинска академија, Институт за научне информације, Црнотравска 17, поштански фах 33–55, 11040 Београд, Србија. Телефони: главни и одговорни уредник 3609 311, технички секретар 3608 943, редакција 3609 902 и 3609 179, претплата 3608 997. Факс 2669 689. E-mail: [vmain1@EUnet.yu](mailto:vmain1@EUnet.yu) (главни и одговорни уредник) и [vmain2@EUnet.yu](mailto:vmain2@EUnet.yu) (редакција).

Радове објављене у „Војносанитетском прегледу“ индексирају: Science Citation Index Expanded (SCIE), Journal Citation Reports/Science Edition, Index Medicus (Medline), Excerpta Medica (EMBASE), EBSCO, Biomedicina Serbica. Садржаје објављују Giornale di Medicina Militare и Revista de Medicina Militara. Приказе оригиналних радова и извода из садржаја објављује International Review of the Armed Forces Medical Services.

Часопис излази дванаест пута годишње. Претплате: жиро рачун код Управе за јавна плаћања у Београду бр. 840-941621-02 – ВМА (за Војносанитетски преглед), ПИБ 102116082, или на девизни рачун код Народне банке број: 54104-ознака валуте-549. Годишња претплата: 3 000 динара за грађане Србије, 6 000 динара за установе из Србије и 100 € (у динарској противвредности на дан уплате) за претплатнике из иностранства. Копију уплатнице доставити на горњу адресу.

# VOJNOSANITETSKI PREGLED

The first issue of *Vojnosanitetski pregled* was published in September 1944  
The Journal continues the tradition of *Vojno-sanitetski glasnik* which was published between 1930 and 1941

## PUBLISHER

Health Department, Sector for Material Resources, Ministry of Defence, Serbia

### PUBLISHER'S ADVISORY BOARD

Brigadier General Assist. Prof. **Veljko Todorović**, MD.  
(Chairman)

### EDITOR'S ADVISORY BOARD

Col. Assoc. Prof. **Nikola Filipović**, MD, PhD  
Col. Assoc. Prof. **Branko Gligić**, MD, PhD  
Major-general, Assoc. Prof. **Miodrag Jevtić**, MD, PhD  
Col. **Miroslav Radovanović**, MD  
Col. Prof. **Nebojša Stanković**, MD, PhD  
Brigadier General Assist. Prof. **Veljko Todorović**, MD, PhD

### INTERNATIONAL EDITORIAL BOARD

Prof. **Andrej Aleksandrov** (Russia)  
Assoc. Prof. **Kiyoshi Ameno** (Japan)  
Prof. **Rocco Bellantone** (Italy)  
Prof. **Hanoch Hod** (Israel)  
Prof. **Abu-Elmagd Kareem** (USA)  
Prof. **Hiroshi Kinoshita** (Japan)  
Prof. **Celestino Pio Lombardi** (Italy)  
Prof. **Philippe Morel** (Switzerland)  
Prof. **Kiyotaka Okuno** (Japan)  
Assoc. Prof. **Branislav Radovančević** (USA)  
Prof. **Stane Repše** (Slovenia)  
Prof. **Mitchell B. Sheinkop** (USA)  
Prof. **Hitoshi Shiozaki** (Japan)  
Prof. **H. Ralph Schumacher** (USA)  
Prof. **Miodrag Stojković** (UK)  
Assist. Prof. **Tibor Tot** (Sweden)

### EDITORIAL BOARD

#### Editor-in-chief

Prof. **Silva Dobrić**, BPharm, PhD

#### Co-editors:

Prof. **Bela Balint**, MD, PhD  
Prof. **Dubravko Bokonjić**, MD, PhD  
Assist. Prof. **Snežana Cerović**, MD, PhD  
Assoc. Prof. **Milanko Čabarkapa**, BPs, PhD  
Col. Prof. **Miodrag Čolić**, MD, PhD, MSAAS  
Prof. **Radoje Čolović**, MD, PhD, MSAAS  
Assoc. Prof. **Vladimir Ćuk**, MD, PhD  
Col. Assist. Prof. **Dragan Dinčić**, MD, PhD  
Assist. Prof. **Branka Đurović**, MD, PhD  
Col. Prof. **Nebojša Jović**, MD, PhD  
Prof. **Vladimir Kanjuh**, MD, PhD, MSAAS  
Prof. **Vladimir Kostić**, MD, PhD, MSAAS  
Col. Prof. **Đoko Maksić**, MD, PhD  
Assist. Prof. **Gordana Mandić-Gajić**, MD, PhD  
Ret. col. Assoc. Prof. **Marjan Marjanović**, MD, PhD  
Prof. **Miodrag Ostojić**, MD, PhD, MSAAS  
Assoc. Prof. **Ljiljana Pavlica**, MD, PhD  
Prof. **Sava Perović**, MD, PhD, MSAAS  
Prof. **Predrag Peško**, MD, PhD, FACS  
Col. Assoc. Prof. **Ranko Raičević**, MD, PhD  
Col. Prof. **Zoran Roganović**, MD, PhD  
Col. Assoc. Prof. **Vojkan Stanić**, MD, PhD  
Assist. Prof. **Dara Stefanović**, MD, Ph.D  
Assist. Prof. **Vesna Šuljagić**, MD, PhD.  
Prof. **Ljubomir Todorović**, DDM, PhD  
Prof. **Mirjana Životić-Vanović**, MD, PhD

#### Editorial staff

Sonja Andrić-Krivokuća, MD, MSc; Snežana Janković, MD;  
Maja Marković, MD; Dragana Mučibabić,  
BA, Aleksandra Gogić, MSc

#### Technical editor

Milan Perovanović

#### Proof reading

Saša Milošević

#### Technical editing

Svetlana Stajić, Vesna Totić, Jelena Vasilj



**Editorial Office:** Military Medical Academy, INI; Crnotravska 17, PO Box 33–55, 11040 Belgrade, Serbia. Tel: +381–11–3609–179; +381–11–3609–902, subscription 3608–997; Fax: +381–11–2669–689; E-mail: [vmaini1@EUnet.yu](mailto:vmaini1@EUnet.yu) and [vmaini2@EUnet.yu](mailto:vmaini2@EUnet.yu)

Papers published in the *Vojnosanitetski pregled* are indexed in: Science Citation Index Expanded (SCIE) Journal Citation Reports/Science Edition, Index Medicus (Medline), Excerpta Medica (EMBASE), EBSCO, Biomedicina Serbica. Contents are published in *Giornale di Medicina Militare* and *Revista de Medicina Militara*. Reviews of original papers and abstracts of contents are published in *International Review of the Armed Forces Medical Services*.

The Journal is published monthly. Subscription: account with Uprava za javna plaćanja in Belgrade. Giro Account No. 840-941621-02 – VMA (za Vojnosanitetski pregled), PIB 102116082 to the foreign currency account with Narodna banka No: 54104-currency-549. Subscription prices per year: individuals 3 000.00 Din, and institutions 6 000,00 Din in Serbia, and foreign subscribers 100€.



## SADRŽAJ / CONTENTS

### ORIGINALNI ČLANCI / ORIGINAL ARTICLES

- Gordana Đorđević, Stojanka Đurić, Slobodan Apostolski, Vidosava Đorđević, Miroslava Živković*  
**Totalni antioksidativni kapacitet plazme kod bolesnika sa dijabetesom melitusom tip 2 i distalnom simetričnom polineuropatijom**  
 Total antioxidant blood capacity in patients with type 2 diabetes mellitus and distal symmetrical polyneuropathy ..... 663
- Stevan Đurić, Dragan Jovanović, Rajko Hrvačević, Zoran Kovačević, Marija Konjević*  
**Asimptomatsko oštećenje bubrega kod osoba sa hroničnom profesionalnom ekspozicijom niskim koncentracijama elementarne žive**  
 Asymptomatic renal damages in persons with chronic professional exposure to elementary memorylow concentrations ..... 670
- Dušan Šurdilović, Ivana Stojanović, Mirjana Apostolović*  
**Karboanhidraza u puferskom sistemu pljuvačke kao mogući biomarker u proceni rizika od nastanka karijesa kod dece**  
 Caries risk estimation in children regarding values of saliva buffer system components and carboanhydrase activity ..... 676
- Zoran Stanojković, Goran Stanojević, Miroslav Stojanović, Dragan Milić, Saša Živić*  
**Ispitivanje uticaja primene fibrinskog lepka sa antibioticima na produkciju kolagena kod anastomoza kolona**  
 Determination of fibrin glue with antibiotics on collagen production in colon anastomosis ..... 681
- Goran Plavec, Ilija Tomić, Sanela Bihorac, Gordana Kovačević, Ljiljana Pavlica, Gordana Cvetković, Stevan Sikimić, Rade Milić*  
**Plućne manifestacije kod sistemskih bolesti vezivnog tkiva**  
 Lung involvement in systemic connective tissue diseases ..... 688
- ### OPŠTI PREGLED / GENERAL REVIEWS
- Miljanka Vuksanović, Snežana Đurica, Branka Žerajić*  
**Dijabetes melitus – faktor rizika od nastanka osteoporoze**  
 Diabetes mellitus – a risk factor for the development of osteoporosis ..... 692
- ### PRACTICAL ADVICE FOR PHYSICIANS / SEMINAR PRAKTIČNOG LEKARA
- Aleksandar Perić, Dejan Gaćeša*  
**Etiology and pathogenesis of chronic rhinosinusitis**  
 Etiologija i patogeneza hroničnog rinosinuzitisa ..... 699

## KAZUISTIKA / CASE REPORTS

*Radoje Čolović, Nikica Grubor, Vladimir Radak, Nataša Čolović, Vitomir Ranković, Stojan Latinčić, Slavko Matić*

**Diseminovana nekroza potkožnog masnog tkiva i artritis oba lakatna zgloba kao komplikacija pankreatitisa**

Disseminated subcutaneous fat necrosis and elbow joint arthritis as a complication of pancreatitis..... 703

*Aleksandra Petrić, Milan Stefanović, Predrag Vukomanović, Radomir Živadinović, Aleksandra Tubić, Zoran Janjić*

**Akutni abdomen kod bolesnice sa Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauserovim sindromom**

Acute abdomen in a patient with Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser syndrome ..... 706

*Gradimir Golubović, Milosav Kiurski, Vladimir Špica, Ratko Tomasević, Aleksandar Pavlović, Nikola Đukić*

**Vaskularne anomalije želuca kao uzrok recidivirajućih krvarenja**

Vascular gastric anomalies as a cause of relapsing bleeding ..... 710

## ISTORIJA MEDICINE / HISTORY OF MEDICINE

*Dragan V. Ilić, Pavle Jović, Vesna Danilović*

**Bartolomeo Eustahije – pisac prvog štampanog dela zubne medicine**

Bartolomeo Eustachius – the author of the first published book on dental medicine..... 715

## PISMO UREDNIKU / LETTER TO THE EDITOR

*Predrag Pavlović*

**A remark on the clinical experiance in treatment of hypertensive patients**

Osvrt na kliničko iskustvo u lečenju bolesnika sa hipertenzijom..... 719

UPUTSTVO AUTORIMA / INSTRUCTIONS TO THE AUTHORS ..... 721



Bartolomeo Eustahije (oko 1510–27.08.1574), jedan od utemeljivača anatomije kao naučne discipline. Prvi je detaljno ispitao anatomiju zuba i fenomen prve i druge denticije (vidi str.715–8).

Bartolomeo Eustachi, also known by his Latin name Eustachius (about 1510–August 27, 1574) was one of the founders of the science of human anatomy. He was the first to accurately study the anatomy of the teeth and the phenomena of the first and second dentition (see p. 715–8).



## Totalni antioksidativni kapacitet plazme kod bolesnika sa dijabetesom melitusom tip 2 i distalnom simetričnom polineuropatijom

Total antioxidant blood capacity in patients with type 2 diabetes mellitus and distal symmetrical polyneuropathy

Gordana Đorđević\*, Stojanka Đurić\*, Slobodan Apostolski†,  
Vidosava Đorđević‡, Miroslava Živković\*

Klinički centar, \*Klinika za neurologiju, †Centar za medicinsku biohemiju, Niš;  
Klinički centar Srbije, ‡Institut za neurologiju, Beograd

### Apstrakt

**Uvod/Cilj.** Smatra se da redukovana sistemska antioksidativna zaštita može igrati važnu medijatorsku ulogu u etiopatogenezi dijabetesne neuropatije. Cilj ovog rada bio je da se utvrdi da li je totalni antioksidativni kapacitet (TAK) plazme redukovana kod bolesnika sa dijabetesom melitusom tip 2 (DM tip 2) i dijabetesnom distalnom simetričnom polineuropatijom (DDSP) i da li utiče na stepen funkcijskog oštećenja perifernih nerava. **Metode.** Ispitivanjem je bilo obuhvaćeno 100 bolesnika sa DM tip 2 i DDSP. Kontrolnu grupu činilo je 50 zdravih osoba. Dijagnoza DDSP postavljena je na osnovu kliničkog i elektroneurografskog (ENG) ispitivanja. Step funkcijskog oštećenja nerava procenjen je na osnovu analize i skorovanja ENG parametara provođenja senzitivnih i motornih vlakana (latencija i amplituda evociranog potencijala, brzina provođenja). Laboratorijske analize podrazumevale su ispitivanje nivoa jutarnje glikemije i glikozilisanog hemoglobina (HbA1C) u krvi, kao i vrednosti TAK plazme. **Rezultati.** Kod bolesnika evidentirane su statistički značajno povišene vrednosti glikemije i HbA1C u odnosu na kontrolnu grupu ( $p < 0,0001$ ), dok su vrednosti TAK plazme bile značajno snižene ( $p < 0,0001$ ). Vrednosti TAK plazme kod bolesnika nisu statistički značajno korelirale sa nivoom glikemije, HbA1C, kao ni sa trajanjem DM. Kod ispitanih bolesnika nije evidentirana statistički značajna korelacija TAK i elektrofizioloških parametara provodljivosti perifernih nerava. **Zaključak.** Vrednost TAK plazme je redukovana kod bolesnika sa DDSP, ali ne koreliše sa vrednostima glikemije, trajanjem bolesti, niti sa stepenom funkcijskog oštećenja perifernih nerava. Ovi rezultati ukazuju na redukovanu sistemska antioksidativnu zaštitu kod bolesnika sa DM tip 2 i DDSP, ali ostavljaju i dalje otvoreno pitanje u kojoj meri je oksidativni stres udružena pojava, odnosno uzrok dijabetesne neuropatije, što sugerise potrebu daljih istraživanja.

**Ključne reči:**  
dijabetes melitus; dijabetesne neuropatije; stres, oksidativni.

### Abstract

**Background/Aim.** Reduced systemic antioxidant defence is considered to play an important mediating role in pathogenesis of diabetic neuropathy. The aim of this study was to evaluate if the total antioxidant blood capacity (TAC) is reduced in patients with type 2 diabetes mellitus (DM) and diabetic distal symmetrical polyneuropathy (DDSP) and to correlate this antioxidant capacity with the degree of peripheral nerve dysfunction. **Methods.** This study involved 100 patients with type 2 DM and signs of DDSP, as well as the control group of 50 healthy subjects. The evaluation of DDSP was based on physical examination and nerve conduction studies. The degree of peripheral nerve dysfunction was estimated by scoring and analysing sensory and motor nerve conduction parameters (distal latency and amplitude of evoked potential, conduction velocity). Laboratory analyses involved blood glucose and HbA1C levels, as well as plasma TAC. **Results.** Blood glucose and HbA1C level was significantly higher in the patients than in the control group ( $p < 0.0001$ ). The TAC was depleted in the diabetic group and the depletion was statistically significant ( $p < 0.0001$ ). There was no significant correlation between the TAC and the serum glucose level, TAC and HbA1C level as well as between TAC and the duration of DM. There was no significant correlation between TAC and peripheral nerve conduction parameters. **Conclusion.** Total antioxidant blood capacity is reduced in patients with DDSP, but it does not correlate with blood sugar level, with the duration of DM or with the degree of functional nerve damage. These results show a reduced systemic antioxidant defence in patients with type 2 DM and DDSP. However, it is still unclear to what extent the oxidative stress is a contributing factor or leading cause of diabetic neuropathy, suggesting that further studies are necessary.

**Key words:**  
diabetes mellitus; diabetic neuropathies; oxidative stress.

## Uvod

*Diabetes mellitus* (DM) je metabolički poremećaj koji se karakteriše povišenim vrednostima glukoze u krvi, kao rezultat insuficijencije sekrecije i/ili aktivnosti endogenog insulina<sup>1</sup>. Ovo oboljenje često je udruženo sa ozbiljnim hroničnim komplikacijama koje značajno narušavaju kvalitet života i skraćuju životni vek bolesnika. Dijabetesna neuropatija (DN) predstavlja jednu od najčešćih komplikacija dijabetesa. Smatra se da više od 50% bolesnika sa DM razvije neku od formi dijabetičke neuropatije tokom osnovne bolesti<sup>2</sup>.

I pored dosadašnjih opsežnih istraživanja, etiopatogenetski mehanizmi odgovorni za nastanak DN još uvek nisu u potpunosti razjašnjeni. Već više od dve decenije posebna pažnja poklanja se ulozi oksidativnog stresa (OS) u razvoju dijabetesne neuropatije. I pored brojnih eksperimentalnih dokaza da je OS prisutan kod bolesnika sa DM još uvek postoje kontroverzna mišljenja o ulozi OS u razvoju i progresiji DN i drugih kasnih komplikacija dijabetesa<sup>3</sup>. I dalje ostaje nejasno koliko oksidativni stres direktno uzrokuje tkivna oštećenja, posebno ako se imaju u vidu značajne antioksidativne rezerve kako u krvi tako i u ćelijama.

Dosadašnja istraživanja patogenetske uloge oksidativnog stresa u razvoju dijabetesne neuropatije uglavnom su bazirana na ispitivanju uticaja antioksidativnih preparata na funkciju perifernih nerava kako kod eksperimentalnih modela, tako i kod ljudi<sup>4-9</sup>. Nema dovoljno studija, koje ispituju direktnu povezanost prooksidativnih, odnosno antioksidativnih parametara i razvoja dijabetesne neuropatije, posebno kada je reč o humanoj populaciji. Posebne teškoće nastaju pri direktnom određivanju reaktivnih kiseoničnih vrsta u biološkim sistemima zbog njihovog kratkog života, te su merenja oksidativnog stresa uglavnom bazirana na indirektnom i nespecifičnom merenju produkata aktivnosti reaktivnih kiseoničnih vrsta.

Postoje tri grupe markera oksidativnog stresa koji se klasično koriste za proučavanje oksidativnog statusa. To su markeri lipidne peroksidacije, totalni antioksidativni kapacitet (TAK) krvi i specifični antioksidativni zaštitni sistemi<sup>10</sup>.

Cilj ovog rada bio je da se utvrdi nivo TAK u krvi bolesnika sa DM tip 2 i dijabetesnom distalnom simetričnom polineuropatijom (DDSP), koja predstavlja jednu od najčešćih formi ispoljavanja DN, kao i da se analizira povezanost antioksidativnog serumskog kapaciteta i funkcije perifernih nerava.

## Metode

Ova prospektivna studije obuhvatila je 100 bolesnika sa DM tip 2 i DDSP. Iz eksperimentne grupe isključeni su

bolesnici koji su bolovali od neke druge akutne ili hronične bolesti, bolesnici kod kojih je sprovedena citotoksična ili radioterapija, kao i bolesnici koji su primali antioksidativne preparate. Kontrolnu grupu predstavljalo je 50 zdravih osoba. Dijagnoza DDSP postavljena je na osnovu kliničkog i elektrofiziološkog ispitivanja. Elektrofiziološko testiranje podrazumevalo je ispitivanje provođenja senzitivnih i motornih vlakana perifernih živaca gornjih i donjih ekstremiteta. Imajući u vidu simetričnu prirodu bolesti, protokol je podrazumevao unilateralno ispitivanje suralnog, peronealnog, tibijalnog, ulnarnog i medialnog živca. Analizirani su latencija, amplituda i brzina provođenja ispitivanih nerava. Minimalni kriterijum za elektrofiziološku potvrdu DN bio je abnormalnost bilo kog elektroneurografskog parametra provođenja najmanje dva živca od kojih je jedan obavezno *n. suralis*. Vrednosti ispitivanih elektroneurografskih parametara izražene su skorovima od 1 do 4, pri čemu je skor 1 označavao normalan nalaz, dok je skor 4 ukazivao na odsustvo evociranog motornog ili senzitivnog potencijala.

Laboratorijske analize podrazumevale su pre svega ispitivanje nivoa jutarnje glikemije i glikozilisanog hemoglobina (HbA1C) u venskoj krvi bolesnika sa DM i zdravih osoba koji su činile kontrolnu grupu. Nivo lipidne peroksidacije, indikatora oksidativnog stresa, određivan je merenjem supstancije koje reaguju sa tiobarbitnom kiselinom (TBARS) u plazmi i eritrocitima, što je prvi put izvršio Yagi<sup>11</sup>. Merenje podrazumeva spektrofotometrijsko određivanje apsorpcije na talasnoj dužini od 532 nm. Totalni antioksidativni kapacitet plazme meren je po metodi Koračević i sar.<sup>12</sup>. Ova metoda bazirana je na sposobnosti bioloških tečnosti (plazme) da inhibiše produkciju TBARS pod uticajem slobodnih kiseoničnih radikala dobijenih iz Fentonove reakcije. Kao standard korišćen je rastvor mokračne kiseline od 1 mmol/l.

Svi dobijeni rezultati izražavani su aritmetičkom sredinom ( $\bar{x} \pm SD$ ). Za određivanje statističke značajnosti korišćen je Studentov *t* test. Nivo TAK u krvi bolesnika korelisan je sa skorovanim elektrofiziološkim parametrima korišćenjem regresione analize.

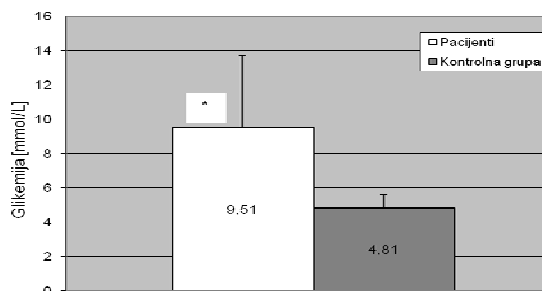
## Rezultati

Ispitivanjem je bilo obuhvaćeno 100 bolesnika sa DM tip 2 i znacima DDSP, prosečne starosti  $58,62 \pm 11,62$  godine i sa prosečnim trajanjem bolesti  $11,32 \pm 7,05$  godine. Kontrolnu grupu činilo je 50 zdravih osoba, prosečne starosti  $51,64 \pm 12,25$  godine (tabela 1).

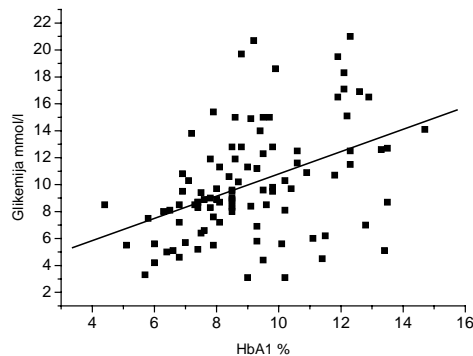
Kod bolesnika evidentirane su statistički značajno povišene vrednosti glikemije i HbA1C u odnosu na kontrolnu grupu (slike 1 i 2).

**Tabela 1**

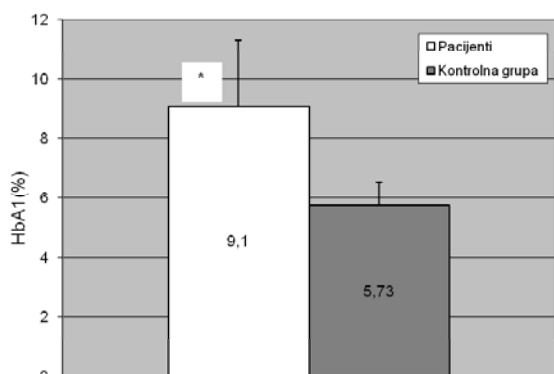
Ispitanici	Karakteristike ispitanika				Trajanje bolesti (god.) ( $\bar{x} \pm SD$ )
	Broj	Muškarci	Žene	Starost (god.) ( $\bar{x} \pm SD$ )	
Bolesnici sa dijabetesom melitusom tip 2	100	55	45	$58,62 \pm 11,62$	$11,32 \pm 7,05$
Kontrolna grupa	50	22	28	$51,64 \pm 12,25$	0



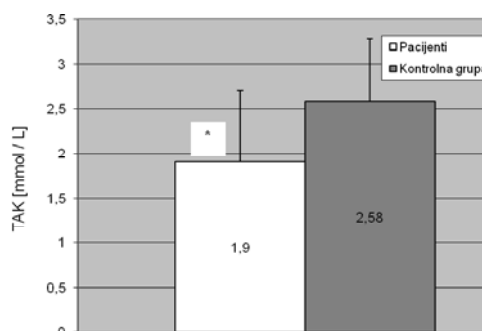
Sl. 1 – Vrednosti glikemije kod bolesnika sa dijabetesnom distalnom simetričnom polineuropatijom u odnosu na kontrolnu grupu (\**p* < 0,0001)



Sl. 3 – Korelacija glikozilisanog hemoglobina (HbA1C) i glikemije kod bolesnika sa dijabetes melitusom tip 2 i dijabetesnom distalnom simetričnom polineuropatijom



Sl. 2 Vrednosti glikozilisanog hemoglobina (HbA1C) kod bolesnika sa dijabetesom distalnom simetričnom polineuropatijom u odnosu na kontrolnu grupu (\**p* < 0,0001)



Sl. 4 – Vrednosti totalnog antioksidativnog kopoliteta (TAK) kod bolesnika sa dijabetesnom distalnom simetričnom polineuropatijom u odnosu na kontrolnu grupu (\**p* < 0,0001)

U grupi bolesnika sa DM tip 2 i DDSP vrednosti HbA1C statistički su značajno korelirale sa nivoom glikemije:  $r = 0,432$ ,  $p < 0,0001$  (slika 3).

Kod bolesnika utvrđeno je postojanje statistički značajnog odstupanja lipidnih peroksida u plazmi i eritrocitima (ER) u odnosu na kontrolnu grupu (tabela 2).

Vrednosti TAK plazme bila je generalno snižena kod bolesnika u odnosu na kontrolnu grupu i to sniženje bilo je statistički značajno (slika 4).

Vrednosti totalnog antioksidativnog kapaciteta plazme nisu statistički značajno korelirale sa nivoom glikemije, HbA1C, kao ni sa trajanjem bolesti, kod bolesnika sa DM tip 2 i DDSP (tabela 3).

Kod svih bolesnika elektrofiziološkim testiranjem dijagnostikovana je DDSP.

Tabela 2

Vrednosti lipidnih peroksida u plazmi i eritrocitima kod bolesnika sa dijabetesnom distalnom simetričnom polineuropatijom i kod kontrolne grupe

Lipidni peroksidi	Kontrolna grupa	Bolesnici	<i>p</i>
	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	
Plazma (mmol/l)	17,105 ± 11,566	25,365 ± 13,977	< 0,001
Eritrociti (nmol/ml)	8,034 ± 2,366	9,777 ± 3,785	< 0,01

Tabela 3

Korelacija glikemije, glikozilisanog hemoglobina (HbA1C) i trajanja bolesti sa totalnim antioksidativnim kapacitetom (TAK) kod bolesnika sa dijabetes melitusom tip 2 i dijabetesnom distalnom simetričnom polineuropatijom

Parametri	Korelacija sa TAK	
	<i>r</i>	<i>p</i>
Glikemija (mmol/l)	0,0827	0,4134
HbA1C (%)	0,1359	0,1776
Trajanje bolesti (god.)	-0,0792	0,4335



Svi elektrofiziološki parametri provodljivosti motornih i senzitivnih vlakana ispitanih živaca gornjih i donjih ekstremiteta bolesnika pokazivali su statistički značajno odstupanje u odnosu na kontrolnu grupu (tabela 4).

### Diskusija

Oksidativni stres pojavljuje se u ćelijskim sistemima u uslovima narušene ravnoteže između stepena produkcije i

Tabela 4

#### Vrednosti elektroneurografskih (ENG) parametara provodljivosti ispitivanih perifernih nerava kod bolesnika sa dijabetesnom distalnom simetričnom polineuropatijom

Evocirani potencijali nerava	ENG parametri provodljivosti	Kontrolna grupa		Bolesnici		<i>t</i>	<i>p</i>
		$\bar{x} \pm SD$		$\bar{x} \pm SD$			
MEP <i>n. peroneus</i>	DL (ms)	3,5352±0,56194		4,66489±1,1301		-6,63647	< 0,001
	AMPL (mV)	5,7672±2,47259		3,45579±2,12602		5,87765	< 0,001
	MBP (m/s)	51,647±5,78719		41,23989±6,76997		9,19563	< 0,001
MEP <i>n. tibialis</i>	DL (ms)	3,556±0,50953		4,93799±1,31777		-7,13344	< 0,001
	AMPL (mV)	11,1924±4,72992		4,61802±2,97514		10,27783	< 0,001
	MBP (m/s)	43,3662±3,0679		35,7226±7,29589		7,083	< 0,001
MEP <i>n. medianis</i>	DL (ms)	3,448±0,54836		4,8894±2,24213		-4,4724	< 0,001
	AMPL (mV)	7,0038±2,51497		4,8894±2,24213		5,22582	< 0,001
	MBP (m/s)	56,5748±7,01327		49,5232±6,21776		6,27123	< 0,001
MEP <i>n. ulnaris</i>	DL (ms)	2,9024±0,62959		3,1716±0,78088		-2,11675	0,035
	AMPL (mV)	7,8742±3,34845		4,9290±7,27421		6,35869	0,002
	MBP (m/s)	57,5408±8,56635		48,5888±8,00952		6,30446	< 0,001
SEP <i>n. suralis</i>	Laten (ms)	2,9346±0,50231		4,13851±0,89875		-8,60063	< 0,001
	AMPL (mV)	15,6132±6,15561		8,78693±5,76884		6,30937	< 0,001
	SBP (m/s)	36,369±4,48467		29,48743±6,35136		6,6284	< 0,001
SEP <i>n. medianus</i>	Laten (ms)	3,9578±0,48632		4,69589±0,82145		-5,83255	< 0,001
	AMPL (mV)	43,072±9,32738		15,7495±9,70063		16,46853	< 0,001
	SBP (m/s)	47,3616±5,63221		38,76853±7,85303		6,85955	< 0,001
SEP <i>n. ulnaris</i>	Laten (ms)	3,2762±0,68032		4,12052±0,82482		-6,22562	< 0,001
	AMPL (mV)	36,4558±11,63344		17,28021±12,21606		9,16162	< 0,001
	SBP (m/s)	46,316±6,09808		38,19897±7,36745		6,6946	< 0,001

MEP – motorni evocirani potencijali; SEP – somoto-senzorni evocirani potencijali; AMPL – amplituda; MBP – motorna brzina provođenja; SBP – somatosenzorna brzina provođenja; laten – latenca; DL – distalna latenca

Navedeni elektrofiziološki parametri nisu značajno korelisali sa vrednostima totalnog antioksidativnog kapaciteta plazme (tabele 5 i 6).

otklanjanja visokoreaktivnih molekula, odnosno kada produkcija slobodnih radikala prevazilazi antioksidativne kapacitete datih sistema<sup>13, 14</sup>. Ako ćelijski antioksidanti ne otkla-

Tabela 5

#### Korelacija totalnog antioksidativnog kapaciteta (TAK) i elektroneurografskih parametara

Korelacija sa TAK	MEP <i>n. peroneus</i>			MEP <i>n. tibialis</i>			MEP <i>n. medianis</i>			MEP <i>n. ulnaris</i>		
	DL	AMP	MBP	DL	AMP	MBP	DL	AMP	MBP	DL	AMP	MBP
	R	0,0102	-0,1367	0,0455	-0,0388	0,0713	0,0484	-0,0316	-0,0752	-0,0295	0,1812	0,1232
<i>p</i>	0,9199	0,1751	0,6530	0,7015	0,4811	0,6324	0,7549	0,4573	0,7711	0,0711	0,2222	0,6127

MEP – motorni evocirani potencijal; R – koeficijent korelacije; MEP – motorni evocirani potencijali; SEP – somoto-senzorni evocirani potencijali; AMPL – amplituda; MBP – motorna brzina provođenja; SBP – somatosenzorna brzina provođenja; laten – latenca; DL – distalna latenca

Tabela 6

#### Korelacija totalnog antioksidativnog kapaciteta (TAK) i elektroneurografskih parametara

Korelacija sa TAK	SEP <i>n. suralis</i>			SEP <i>n. medianus</i>			SEP <i>n. ulnaris</i>		
	laten	AMP	SBP	laten	AMP	SBP	laten	AMP	SBP
	R	-0,0004	-0,0143	-0,0480	0,0277	-0,1301	-0,0792	0,0721	0,0024
<i>p</i>	0,9972	0,8877	0,6355	0,7846	0,1969	0,4334	0,4761	0,9812	0,9620

SEP – senzitivni evocirani potencijal; R – koeficijent korelacije; MEP – motorni evocirani potencijali; SEP – somoto-senzorni evocirani potencijali; AMPL – amplituda; MBP – motorna brzina provođenja; SBP – somatosenzorna brzina provođenja; laten – latenca; DL – distalna latenca

njaju slobodne radikale, radikali napadaju i oštećuju proteine, lipide i nukleinske kiseline narušavajući brojne ćelijske funkcije. Akumulacija ovakvih oštećenja obavezno dovodi do smrti ćelije putem mehanizama nekroze i/ili apoptoze. U perifernom nervnom sistemu tanka nervna vlakna pokazuju posebnu osetljivost na oksidativna oštećenja. Nervna vlakna ne samo da podležu degeneraciji, već je narušena i njihova regenerativna sposobnost, što rezultuje neuropatskim promenama.

U cilju sprečavanja štetnih efekata slobodnih radikala, biološki sistemi su oformili određene antioksidativne zaštitne mehanizme. Postoje tri osnovna nivoa antioksidativne zaštite<sup>15</sup>. Prvi nivo obuhvata sisteme antioksidativne zaštite, koji sprečavaju stvaranje slobodnih radikala. Drugi nivo odbrane podrazumeva angažovanje sistema u uslovima normalnog i pojačanog stvaranja slobodnih radikala. Ovaj sistem zaštite čine enzimski i neenzimski antioksidansi. Enzimski antioksidansi (superoksid dismutaza – SOD, katalaza, glutation peroksidaza – GSH-Px, (GSH) – reduktaza, GSH-S – transferaza) čine prvu liniju antioksidativne zaštite, dok neenzimski antioksidansi predstavljaju sekundarnu liniju odbrane. Treći nivo antioksidativne zaštite ostvaruju enzimski antioksidansi koji učestvuju u reparaciji već nastalog oksidativnog oštećenja lipida, proteina, ugljenih hidrata i nukleinskih kiselina. Glavni deo našeg istraživanja odnosio se na ispitivanje drugog nivoa antioksidativne zaštite, odnosno na ispitivanje antioksidativnog statusa u krvi bolesnika sa DM tip 2.

Kod svih bolesnika evidentirano je statistički značajno povećanje nivoa glikemije i HbA1C u odnosu na kontrolnu grupu. Potvrđena je jasna linearna pozitivna korelacija nivoa glikemije i nivoa HbA1C kod bolesnika, što je potvrda hronično povišene vrednosti glukoze u krvi u grupi bolesnika.

Za procenu narušene prooksidativno-antioksidativne ravnoteže kod DM, od posebnog značaja je ispitivanje lipidnih peroksida. Lipidna peroksidacija kao najčešći fenomen delovanja slobodnih radikala predstavlja oksidativno oštećenje koje zahvata ćelijske membrane, lipoproteine i druge molekule koji sadrže lipide, u uslovima postojanja OS. Lipidi ćelijskih membrana predstavljaju najčešće supstrate oksidativnog stresa. Jednom pokrenuta reakcija peroksidacije nastavlja se autokatalitički, ima progredijentni tok, a u krajnjoj liniji dovodi do funkcionalnih i strukturnih promena supstrata. Krajnji produkti lipidne peroksidacije obično se detektuju indirektnim putem – merenjem TBARS. Merenje TBARS, indeksa lipidne peroksidacije, prvi put sproveo je Yagi 1976. godine. Rezultati sprovedenih ispitivanja pokazali su povećanje nivoa TBARS u plazmi dijabetičara, što je bilo u skladu sa rezultatima narednih studija<sup>16–20</sup>. Najveći broj publikovanih studija ukazao je na povećanje lipidnih peroksida, kako kod DM tip 1 tako i kod DM tip 2. Rezultati našeg istraživanja, takođe, pokazuju statistički značajno povećanje nivoa lipidnih peroksida kako u plazmi ( $p < 0,001$ ), tako i u eritrocitima ( $p < 0,01$ ) bolesnika u odnosu na kontrolnu grupu.

Za određivanje TAK postoje različite metode, ali još uvek nije definisana referentna metoda kao „zlatni standard“<sup>21</sup>. U ovoj studiji korišćena je metoda koju su predložili Koraćević i sar.<sup>12</sup> i za koju je potvrđeno da pruža komparativne

rezultate sa Randox metodom koja se, inače, najšće primenjuje u istraživanjima. Metoda koju su predložili Koraćević i sar.<sup>12</sup> pouzdana je, jednostavna, praktična za rutinsko merenje i zahteva malu količinu seruma.

Vrednost TAK nije jednostavna suma aktivnosti različitih antioksidativnih supstancija. Ona, zapravo, predstavlja dinamični sistem međusobno zavisnih pojedinačnih serumskih antioksidativnih parametara. Smatra se da kooperacija antioksidanasa u serumu obezbeđuje veću zaštitu od štetnih uticaja slobodnih radikala u odnosu na svaki pojedinačni antioksidans.

Najveći broj studija ukazuje na značajno smanjenje serumskog TAK kod bolesnika sa DM tip 1 i DM tip 2<sup>10, 22–26</sup>. U skladu sa time, Valabhji i sar.<sup>26</sup> su evidentirali smanjen totalni antioksidativni kapacitet kod bolesnika sa DM tip 1, pri čemu su utvrdili povezanost totalnog antioksidativnog kapaciteta i pojave kalcifikacije koronarnih arterija, u smislu negativne korelacije. Smanjen TAK kod bolesnika sa DM tip 1 potvrdili su Pinzani i sar.<sup>27</sup>. Najnovije studije, takođe, ukazuju na redukovani TAK kako kod bolesnika sa DM tip 1, tako i kod bolesnika sa DM tip 2<sup>20, 28, 29</sup>.

Rezultati naših istraživanja, takođe, pokazali su statistički značajno ( $p < 0,0001$ ) smanjenje ukupnog serumskog antioksidativnog kapaciteta kod bolesnika u odnosu na kontrolnu grupu.

Rahbani-Nobar i sar.<sup>30</sup> evidentirali su sniženi TAK kako kod DM tip 1, tako i kod DM tip 2, pri čemu je sniženje TAK bilo izraženije kod bolesnika sa DM tip 2. Ovaj nalaz bi se mogao dovesti u vezu sa lošijom kontrolom glikemije kod bolesnika sa DM tip 2, u odnosu na bolesnike sa DM tip 1. U ovoj studiji vrednosti TAK korelisale su sa vrednostima glikemije i glikozilisanog hemoglobina, što ukazuje na moguću ulogu TAK kao markera glikemijske kontrole. Suprotno ovim rezultatima, kao i našim očekivanjima, u našoj studiji dobijene vrednosti TAK nisu statistički značajno korelisale sa markerima metabolizma glukoze (glikemija i HbA1C), niti sa trajanjem bolesti. To bi se moglo tumačiti vremenski uslovljenim promenama pojedinačnih konstituenasa totalnog antioksidativnog kapaciteta, što se opisuje u literaturi, pre svega kada je reč o antioksidativnim enzimima, a što bi se moglo odraziti i na ukupni antioksidativni status<sup>31, 32</sup>.

Drugi deo našeg istraživanja odnosio se na ispitivanje međusobne povezanosti totalnog antioksidativnog kapaciteta krvi i stepena funkcionalnog oštećenja perifernih nerava. S tim u vezi, ispitivana je korelacija TAK krvi i elektroneurografskih parametara provodljivosti ispitanih perifernih nerava gornjih i donjih ekstremiteta. Svi elektroneurografski parametri provodljivosti perifernih nerava pokazivali su odstupanja kod bolesnika u odnosu na kontrolnu grupu i ta odstupanja bila su statistički značajna. Između nivoa TAK i ENG parametara nije utvrđena statistički značajna korelacija.

Ovi rezultati i dalje ostavljaju nerazjašnjeno pitanje o tome koliko OS direktno učestvuje u etiopatogenezi DN, a koliko je samo prateća pojava. Takođe, ostaje nerešeno pitanje koliko sistemski oksidativni stres ima ulogu u nastanku DN u odnosu na endoneuralni prooksidativno-antioksidativni

status. Može se polemisati i o ulozi i značaju pojedinačnih konstituenata ukupnog antioksidativnog kapaciteta krvi u razvoju nervnih oštećenja, kao što su određeni antioksidativni enzimi, poput SOD, katalaze i GSH-Px. Postavlja se pitanje da li redukcija aktivnosti pojedinačnih antioksidativnih enzima ima veći uticaj na razvoj neuropatskih promena u odnosu na redukciju celokupnog antioksidativnog kapaciteta, imajući u vidu ulogu antioksidativnih enzima u otklanjanju reaktivnih slobodnih radikala koji su glavni uzrok tkivnih oštećenja. Sva ova pitanja i dileme ukazuju na kompleksnost patogenetskih mehanizama odgovornih za razvoj komplikacija dijabetesa.

## Zaključak

Vrednost TAK plazme redukovana je kod bolesnika sa DDSP, ali ne koreliše sa vrednostima glikemije, trajanjem bolesti, niti sa stepenom funkcionalnog oštećenja perifernih nerava. Ovi rezultati ukazuju na redukovanu sistemsku antioksidativnu zaštitu kod bolesnika sa DM tip 2 i DDSP, ali ostavljaju i dalje otvoreno pitanje u kojoj meri je oksidativni stres udružena pojava, odnosno uzrok dijabetičke neuropatije, što sugeruje potrebu daljih istraživanja u cilju boljeg razumevanja uloge OS i sistemske antioksidativne zaštite u razvoju DN i drugih dijabetičkih komplikacija.

## L I T E R A T U R A

1. *American Diabetes Association*. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2004; 27 Suppl 1: S5–S10.
2. *Feldman EL*. Oxidative stress and diabetic neuropathy: a new understanding of an old problem. *J Clin Invest* 2003; 111(4): 431–3.
3. *Kuroki T, Isshiki K, King GL*. Oxidative stress: the lead or supporting actor in the pathogenesis of diabetic complications. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14(8 Suppl 3): S216–20.
4. *Ziegler D, Hanefeld M, Rubnan KJ, Meissner HP, Lobisch M, Schütte K*, et al. Treatment of symptomatic diabetic peripheral neuropathy with the anti-oxidant alpha-lipoic acid. A 3-week multicentre randomized controlled trial (ALADIN Study). *Diabetologia* 1995; 38(12): 1425–33.
5. *Reljanović M, Reichel G, Rett K, Lobisch M, Schuette K, Möller W*, et al. Treatment of diabetic polyneuropathy with the antioxidant thioctic acid (alpha-lipoic acid): a two year multicenter randomized double-blind placebo-controlled trial (ALADIN II). *Alpha Lipoic Acid in Diabetic Neuropathy*. *Free Radic Res* 1999; 31(3): 171–9.
6. *Ziegler D, Hanefeld M, Rubnan KJ, Hasche H, Lobisch M, Schütte K*, et al. Treatment of symptomatic diabetic polyneuropathy with the antioxidant alpha-lipoic acid: a 7-month multicenter randomized controlled trial (ALADIN III Study). *ALADIN III Study Group*. *Alpha-Lipoic Acid in Diabetic Neuropathy*. *Diabetes Care* 1999; 22(8): 1296–301.
7. *Ametov AS, Barinov A, Dyck PJ, Hermann R, Kozlova N, Litchy WJ*, et al. The sensory symptoms of diabetic polyneuropathy are improved with alpha-lipoic acid: the SYDNEY trial. *Diabetes Care* 2003; 26(3): 770–6.
8. *Ziegler D, Gries FA*. Alpha-lipoic acid in the treatment of diabetic peripheral and cardiac autonomic neuropathy. *Diabetes* 1997; 46 Suppl 2: S62–6.
9. *Ziegler D, Schatz H, Conrad F, Gries FA, Ulrich H, Reichel G*. Effects of treatment with the antioxidant alpha-lipoic acid on cardiac autonomic neuropathy in NIDDM patients. A 4-month randomized controlled multicenter trial (DEKAN Study). *Deutsche Kardiale Autonome Neuropathie*. *Diabetes Care* 1997; 20(3): 369–73.
10. *Bonnefont-Rousselot D, Bastard JP, Jaudon MC, Delattre J*. Consequences of the diabetic status on the oxidant/antioxidant balance. *Diabetes Metab* 2000; 26(3): 163–76.
11. *Yagi K*. A simple fluorometric assay for lipoperoxide in blood plasma. *Biochem Med* 1976; 15(2): 212–6.
12. *Koraćenić D, Koraćenić G, Đorđević V, Andrejević S, Čosić V*. Method for the measurement of antioxidant activity in human fluids. *J Clin Pathol* 2001; 54(5): 356–61.
13. *Johansen JS, Harris AK, Rychly DJ, Ergul A*. Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: linking basic science to clinical practice. *Cardiovasc Diabetol* 2005; 4(1): 5.
14. *Maritim AC, Sanders RA, Watkins JB* 3rd. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. *J Biochem Mol Toxicol* 2003; 17(1): 24–38.
15. *Đorđević VB, Pavlović DD, Kocić GM*, editors. *Biochemistry of free radicaly*. Niš: Medicinski fakultet 2000. (Serbian)
16. *Gallon G, Ruelland A, Legras B, Mangendre D, Allannic H, Cloarec L*. Plasma malondialdehyde in type 1 and type 2 diabetic patients. *Clin Chim Acta* 1993; 214(2): 227–34.
17. *Gugliucci A, Menini T, Stahl AJ*. Susceptibility to copper-enhanced autooxidation of VLDL+LDL fractions from diabetic patients. *Biochem Mol Biol Int* 1994; 32(1): 139–47.
18. *Nouroozi-ZJ, Rabimi A, Sarmadi TJ, Tritschler H, Rosen P, Halliwell B*, et al. Relationships between plasma measures of oxidative stress and metabolic control in NIDDM. *Diabetologia* 1997; 40(6): 647–53.
19. *Prashant AV, D'souza HV, D'souza B*. Age related changes in lipid peroxidation and antioxidants in elderly people. *Indian Jour Clin Biochem* 2007; 22(1): 131–4. ?
20. *Kamakerishna V, Jaikhanani R*. Evaluation of oxidative stress in Insulin Dependent Diabetes Mellitus (IDDM) patients. *Diagn Pathol* 2007; 2: 22.
21. *Horoz M, Bolukbas C, Bolukbas FF, Sabuncu T, Aslan M, Sarifakiogullari S*, et al. Measurement of the total antioxidant response using a novel automated method in subjects with non-alcoholic steatohepatitis. *BMC Gastroenterol* 2005; 5: 35.
22. *Tsai EC, Hirsch IB, Brunzell JD, Chait A*. Reduced plasma peroxyl radical trapping capacity and increased susceptibility of LDL to oxidation in poorly controlled IDDM. *Diabetes* 1994; 43(8): 1010–4.
23. *Ceriello A, Bortolotti N, Pirisi M, Crescentini A, Tonutti L, Motz E*, et al. Total plasma antioxidant capacity predicts thrombosis-prone status in NIDDM patients. *Diabetes Care* 1997; 20(10): 1589–93.
24. *Maxwell SR, Thomason H, Sandler D, Leguen C, Baxter MA, Thorpe GH*, et al. Antioxidant status in patients with uncomplicated insulin-dependent and non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Eur J Clin Invest* 1997; 27(6): 484–90.
25. *Opara EC, Abdel-Rahman E, Soliman S, Kamel WA, Souka S, Lowe JE*, et al. Depletion of total antioxidant capacity in type 2 diabetes. *Metabolism* 1999; 48(11): 1414–7.
26. *Valabhji J, McColl AJ, Richmond W, Schachter M, Rubens MB, Elkeles RJ*. Total antioxidant status and coronary artery calcification in type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2001; 24(9): 1608–13.
27. *Pinzani P, Petrucci E, Orlando C, Gallai R, Serio M, Paszagli M*. Serum antioxidant capacity in healthy and diabetic subjects as determined by enhanced chemiluminescence. *J Biolumin Chemilumin* 1998; 13(5): 321–5.
28. *Faure P, Wiernsperger N, Polge C, Favier A, Halimi S*. Impairment of the antioxidant properties of serum albumin in patients with diabetes: protective effects of metformin. *Clin Sci (Lond)* 2008; 114(3): 251–6.

29. *Del Razo LM, Gonzalez JC, De La Pena JE, Salazar FS, Vargas GG.* Total antioxidant capacity in Type 2 diabetic people living in arsenic-endemic area in North Mexico. *Epidemiology* 2007; 18(5): p. S134.
30. *Rabbani-Nobar ME, Rabimi-Pour A, Rabbani-Nobar M, Adi-Beig F, Mirhashemi SM.* Total antioxidant capacity, superoxide dismutase and glutathion peroxidase in diabetic patients. *Med Jour Islamic Academy Sci* 1999; 12(4): 109–14.
31. *Sasari M, Nyakas C.* Time dependent changes in oxidative metabolism during chronic diabetes in rats. *Acta Biologica Szege-diensis* 2003; 47: 153–8.
32. *Majithiya JB, Balaraman R.* Time-dependent changes in antioxidant enzymes and vascular reactivity of aorta in streptozotocin-induced diabetic rats treated with curcumin. *J Cardiovasc Pharmacol* 2005; 46(5): 697–705.

Rad je primljen 9. V 2008.



## Asimptomatsko oštećenje bubrega kod osoba sa hroničnom profesionalnom ekspozicijom niskim koncentracijama elementarne žive

Asymptomatic renal damages in persons with chronic professional exposure to elementary mercury low concentrations

Stevan Đurić\*, Dragan Jovanović†, Rajko Hrvačević†, Zoran Kovačević†, Marija Konjević\*

Zdravstveni centar „Južni Banat“, \*Odeljenje nefrologije, Pančevo;  
Vojnomedicinska akademija, †Klinika za nefrologiju, Beograd

### Apstrakt

**Uvod/Cilj.** Svi oblici žive deluju toksično na većinu organa, a posebno na bubrege. Najznačajniji izvor profesionalne ekspozicije žive su postrojenja za proizvodnju hlora, pri čemu se kao katoda koristi živa. Cilj rada bio je da se dokaže da hronično izlaganje niskim koncentracijama elementarne žive može prouzrokovati asimptomatsko oštećenje bubrega. **Metode.** Kod 40 radnika starosti  $45 \pm 8$  godina zaposlenih u fabrici „HIP-Petrohemija“ Pančevo, koji su u toku radnog procesa izloženi dejstvu žive i 20 radnika starosti  $44 \pm 7$  godina iz fabrike „Panonijaplast“ Pančevo, u čijem procesu proizvodnje nema žive niti drugih nefrotoksičnih materija, izvršene su laboratorijske analize uključujući i testiranje funkcije bubrega i određene su koncentracije žive u urinu. Takođe, sprovedeno je i merenje koncentracije žive u vazduhu radnih prostorija fabrike. **Rezultati.** Utvrđeno je da koncentracija žive na svim ispitivanim radnim mestima u elektrolizi ne prelazi maksimalno dozvoljenu koncentraciju za osmosatnu ekspoziciju. U grupi eksponiranih 40 radnika 75% ispitanika je imalo koncentraciju žive u urinu  $< 0,1 \mu\text{mol/l}$ , a 25% ispitanika  $0,1-0,75 \mu\text{mol/l}$ . U kontrolnoj grupi (20 osoba) svi ispitanici su imali koncentraciju žive u urinu  $< 0,1 \mu\text{mol/l}$ . Utvrđena je pozitivna korelacija između koncentracije žive i koncentracije  $\beta_2$ -mikroglobulina u urinu ( $p < 0,05$ ), između koncentracije žive u urinu i aktivnosti  $\gamma$  GT ( $p < 0,05$ ) i koncentracije žive u urinu i nivoa retinol binding protein-a (RBP) ( $p < 0,01$ ). **Zaključak.** Kod 25% eksponiranih ispitanika nađena je značajno veća urinarna ekskrecija žive nego kod pripadnika kontrolne grupe. Mada nije statistički značajna, učestalost asimptomatske renalne tubulske lezije i disfunkcije blagog stepena veća je kod eksponiranih osoba, nego kod onih iz kontrolne grupe.

### Ključne reči:

živa; profesionalna izloženost; bubreg, insuficijencija; beta 2 mikroglobulin; retinol-vezujući protein; urin; gama glutamil-transferaza.

### Abstract

**Background/Aim.** Any forms of mercury have toxic action on the majority of organs, especially kidneys. The major source of professional exposure to mercury are departments for the production of chlorine which use mercury as cathode. The aim of the study was to prove that chronic exposure to elementary mercury low concentrations could cause asymptomatic damages of the kidneys. **Methods.** A total of 40 workers from the factory „HIP Petrohemija“ Pančevo, of the mean age  $45 \pm 8$  years, who were exposed to the effects of mercury for more than 20 years within the production procedure, and 20 workers from the factory „Panonijaplast“ Pančevo, of the mean age  $44 \pm 7$  years, who were not exposed to mercury nor to other nephrotoxic agents, were submitted to laboratory analysis, renal function testing, and determination of mercury concentration in urine. Mercury concentration was also measured in the air of working premises of the factory. **Results.** The performed measurements confirmed that the concentrations of mercury at any tested working place in the Department of Electrolysis were not more than the maximally permitted concentration for an 8-hour exposition. In the exposed group (40 examinees) 75% of the examinees had mercury in urine in the concentration  $< 0.1 \mu\text{mol/l}$ , while in 25% of them it was  $0.1-0.75 \mu\text{mol/l}$ . In the control group (20 examinees) all of the examinees showed to have  $< 0.1 \mu\text{mol/l}$  mercury in urine. There was determined a positive correlation between the concentration of mercury in urine and the value of  $\beta_2$ -microglobulin ( $p < 0.05$ ), as well as between the concentration of mercury in urine and  $\gamma$ GT activity ( $p < 0.05$ ), and between the concentration of mercury in urine and the value of retinol-binding protein ( $p < 0.01$ ). **Conclusion.** In 25% of the examinees excretion of mercury was significantly higher than in the control group. The frequency of asymptomatic renal tubular lesions and dysfunction of moderate extent were found to be higher in the exposed group than in the control one.

### Key words:

mercury; occupational exposure; renal insufficiency; beta 2 microglobulin; retinol-binding proteins; urine; gamma-glutamyltransferase.

## Uvod

Svi oblici žive deluju toksično na većinu organa čoveka, a posebno na bubrege<sup>1-3</sup>. Živa i njena jedinjenja koriste se u poljoprivredi, farmaceutskoj i hemijskoj industriji, u proizvodnji mernih instrumenata i dr. Najznačajniji izvor profesionalne ekspozicije elementarnoj živi su postrojenja za proizvodnju hlora zasnovana na hidrolizi natrijum hlorida (NaCl), pri čemu se kao katoda koristi živa<sup>1</sup>. Sva dosadašnja praćenja sadržaja žive u vazduhu radne sredine u svim elektrolizama pokazuju povećan sadržaj žive i on se kreće od 0,2 do 1 mg/m<sup>3</sup>, zavisno od starosti elektroliza, godišnjih doba i kapaciteta<sup>1</sup>. Metalna živa dospeva u organizam profesionalno izloženih radnika inhalacijom živinih para, a u manjoj meri apsorpcijom preko kože i iz gastrointestinalnog trakta<sup>4,5</sup>. Nasuprot neorganskim jedinjenjima, organska jedinjenja žive imaju visok stepen apsorpcije iz gastrointestinalnog trakta (skoro 90%)<sup>5</sup>. Živa se deponuje u bubrezima, jetri, zidu tankog creva, mišićima, slezini, srcu i plućima, a manje količine prodiru i u centralni nervni sistem (CNS) i deponuju se u sivoj moždanoj masi<sup>6,7</sup>. Najznačajnije kliničke manifestacije akutnog trovanja su: metalni ukus u ustima, proliv, nauzeja, bolovi u trbuhu, glavobolja, a ponekad i krvave stolice. Sve ovo može se smatrati nespecifičnim simptomima. Karakteristični znaci akutnog trovanja su: orofaringealni sindrom i akutna renalna insuficijencija. Pri hroničnoj ekspoziciji najznačajnije su promene funkcije CNS i bubrega. Kod hroničnog trovanja pored nespecifičnih simptoma u vidu slabosti, malaksalosti, stalnog umora, gubitka apetita i gubitka u težini, javljaju se orofaringealni i neuropsihički sindrom.

Cilj rada bio je da se dokaže da hronično izlaganje niskim koncentracijama elementarne žive može prouzrokovati asimptomatsko oštećenje bubrega.

## Metode

Grupu ispitanika sačinjavalo je 40 radnika iz hlorkalne fabrike „HIP-Petrohemija“ Pančevo, koji su u toku radnog procesa bili izloženi dejstvu žive. Elektroliza u Pančevu je urađena po OLIN tehnologiji. Kapacitet je 250 tona na dan. Kada se sumiraju svi tokovi u procesu, dolazi se do gubitka 15–45 kg žive na dan.

Kontrolnu grupu činilo je 20 radnika iz fabrike „Panonijaplast“ u sastavu „HIP-Petrohemije“ Pančevo, koja je udaljena od Pančeva 20 km i u čijem procesu proizvodnje nema žive, niti drugih nefrotoksičnih materija.

Pored anamneze i fizičkog pregleda po organskim sistemima, laboratorijskih analiza (sedimentacija eritrocita, kompletna krvna slika, urea, kreatinin, mokraćna kiselina, glikemija, transaminaze, ukupni proteini), pregleda urina (celokupni pregled urina, koncentracija žive u urinu, klirens endogenog kreatinina,  $\gamma$  GT, mikroalbumini, *retinol binding protein* (RBP) i  $\beta_2$ -mikroglobulin) i ehosonografskog ispitivanja bubrega, vršeno je i merenje koncentracije žive u vazduhu radnih prostorija fabrike. Za merenje koncentracije žive u vazduhu, korišćen je lični uzimač uzorka (Pumpe, proizvođač Casella, London), a obrada uzorka je rađena metodom besplamene atomske apsorpcione spektrofotometrije na apa-

ratu Perkin-Elmer tip 372. Ispitivanje je vršeno tokom normalnog izvođenja elektrolize. Maksimalna dozvoljena koncentracije za osmosatnu ekspoziciju iznosi 50  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ . Koncentracija žive u urinu određivana je na aparatu MAS 50-A/nmB korišćenjem metode bezplamene atomske apsorpcione spektrofotometrije u Zavodu za zdravstvenu zaštitu radnika u Novom Sadu.

Statistička značajnost između pojedinih obeležja grupa određivana je primenom Studentovog *t* testa za nezavisne uzorke, odnosno u slučaju pojave visokih vrednosti standardne devijacije Mann-Whitney testom, a značajnost razlike u učestalosti između dve grupe primenom Fišerovog i Kolmogorov-Smirnov testa. Korelacija pojedinih obeležja grupa ispitivana je primenom Pearsonove, odnosno Spearmanove korelacione analize. Obrada podataka izvršena je pomoću komercijalnog statističkog softvera za PC računare (Stat for Windows, R.4.5, Stat Soft, Inc., SAD, 1993).

## Rezultati

Ispitano je 40 radnika iz grupe eksponiranih (grupa II), starosti 45 $\pm$ 8 godina (raspon 30–60 godina), kao i 20 radnika kontrolne grupe (grupa I), starosti 44 $\pm$ 7 godina (raspon 37–55 godina). Prosek radnog staža u grupi eksponiranih bio je 20,97 godina, a prosek radnog staža u kontrolnoj grupi 20,70 godina. Svim radnicima iz grupe eksponiranih pogon elektrolize u HIP Petrohemiji bio je prvo radno mesto.

Ispitivanjem je utvrđeno da koncentracija žive na svim ispitivanim radnim mestima u elektrolizi ne prelazi maksimalno dozvoljenu koncentraciju za osmosatnu ekspoziciju (tabela 1).

Tabela 1

### Koncentracija žive u radnom prostoru elektrolize

Mesto merenja	MDK ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )	Izmerena koncentracija ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )
Komandna soba-elektrolize	50	10,7
Hala ćelija-dekompozer	50	31,5
Hala ćelija-kota 0	50	28,4
Radion. mašinbr. II-radni sto	50	13,3
Manipulant sirov. i proizvodnje	50	< 4,4
Menza	50	5,1
Kancelarija direktora	50	< 3,7
Kancelarija ing. proizvodnje	50	< 5,0
Kancelarija ing. održavanja	50	< 4,8

MDK – maksimalno dozvoljena koncentracija

Napomena: merenje je izvršeno na temperaturi od 18,4 °C, uz relativnu vlažnost 48% i strujanje vazduha 0,4 m/s.

U tabeli 2 prikazani su karakteristični parametri, a u tabeli 3 koncentracija žive u urinu kod obe grupe ispitanika. Iz navedenih vrednosti uočljivo je da nema statistički značajne razlike u godinama starosti, dužini radnog staža i vrednostima biohemijskih parametara između posmatranih grupa. U grupi eksponiranih zabeležena je statistički značajna razlika u distribuciji ispitanika u odnosu na prikazane intervale koncentracije žive u urinu ( $p < 0,05$ ). U kontrolnoj grupi svi ispitanici imali su koncentraciju žive u urinu  $< 0,1 \mu\text{mol}/\text{l}$ . U

Tabela 2

Parametri	Karakteristike i biohemijski parametri ispitanika		<i>t</i> ili <i>z</i> * vrednost	<i>p</i>
	Kontrolna grupa $\bar{x}\pm SD$	Grupa eksponiranih $\bar{x}\pm SD$		
Životno doba (godine)	44,45±5,68	45,00±6,45	0,3224	0,7476
Radni staž (godine)	20,70±7,16	20,97±6,83	0,1445	0,8855
Sistolni pritisak (mm/Hg)	122,25±19,36	126,12±16,69	0,8032	0,4251
Dijastolni pritisak (mm/Hg)	82,50±13,71	86,25±9,91	1,2112	0,2307
Albuminurija (mg/l)	13,42±32,74	17,87±32,41	1,9900*	0,0567
$\gamma$ GT (IJ/l)	14,35±12,97	20,65±25,12	0,4793*	0,6316
RBP ( $\mu$ g/l)	73,60±63,90	82,03±53,80	0,9096*	0,3629
$\beta_2$ -mikroglobulin (ng/ml)	83,27±76,25	103,08±83,20	1,1761*	0,2395
Urea (mmol/l)	5,00±1,22	5,09±1,09	0,3041	0,7620
Kreatinin ( $\mu$ mol/l)	84,26±9,24	79,73±10,31	1,6561	0,1030
Klirens kreatinina (ml/min)	112,47±40,89	112,68±32,29	0,0216	0,9827
Uzdužni promer d. bubrega (mm)	109,06±10,98	106,60±9,59	0,8583	0,3944
Uzdužni promer l. bubrega (mm)	111,11±8,12	113,32±9,18	0,8739	0,3859
Debljina parenhima desno (mm)	16,76±3,49	17,18±3,61	0,4149	0,6798
Debljina parenhima levo (mm)	20,27±3,82	20,20±3,65	0,0735	0,9416

\*Mann-Whitney test; RBP – *retinol binding protein*

Tabela 3

Koncentracija žive u urinu ( $\mu$ mol/l)	Kontrolna grupa		Grupa eksponiranih		<i>p</i> *
	broj	%	broj	%	
< 0,1	20	100,0	30	75,5	0,0238
0,1–0,75			10	25,0	
> 0,75					
Ukupno	20	100,0	40	100,0	

\*Fišerov test

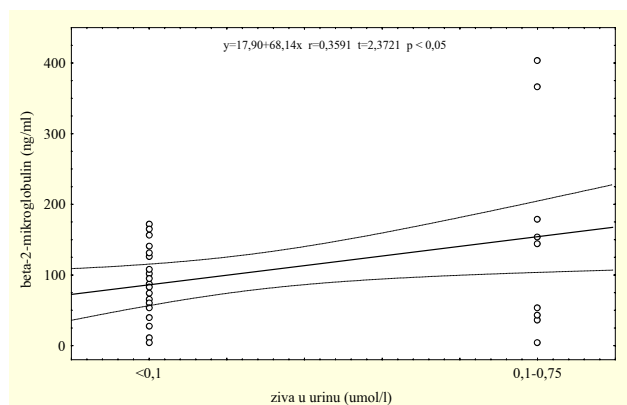
grupi eksponiranih 75% ispitanika imalo je koncentraciju žive u urinu < 0,1  $\mu$ mol/l, a 25% ispitanika 0,1–0,75  $\mu$ mol/l. Srednja vrednost sistolnog krvnog pritiska u grupi eksponiranih nije bila statistički značajno različita u odnosu na kontrolnu grupu ( $p = 0,42$ ), kao ni vrednost dijastolnog krvnog pritiska ( $p = 0,23$ ). Srednja vrednost albumina u urinu u grupi eksponiranih ne razlikuje se značajno od srednje vrednosti u kontrolnoj grupi ( $p = 0,057$ ). Takođe, vrednost aktivnosti  $\gamma$  GT ( $p = 0,63$ ) i RBP slična je u obe grupe ispitanika ( $p = 0,36$ ). Srednja vrednost  $\beta_2$ -mikroglobulina u grupi eksponiranih bila je 103,08 ng/ml i ne razlikuje se statistički značajno u odnosu na vrednost u kontrolnoj grupi (82,27 mg/ml) ( $p = 0,23$ ). Nije bilo statistički značajne razlike srednjih vrednosti koncentracija ureje i kreatinina između

grupe eksponiranih i kontrolne grupe. Na slici 1 prikazana je pozitivna korelacija između koncentracije žive u urinu i vrednosti  $\beta_2$ -mikroglobulina ( $p < 0,05$ ).

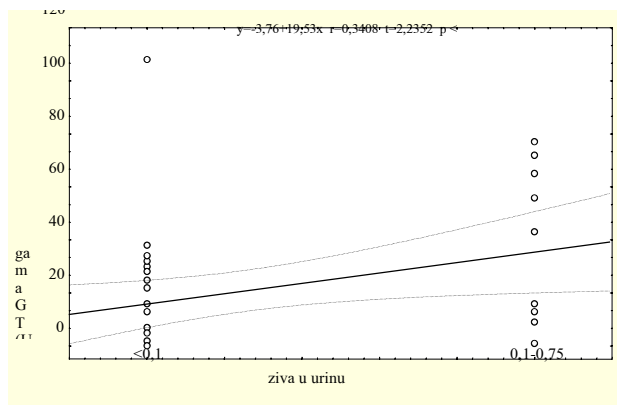
Registrovana je statistički značajna pozitivna korelacija između koncentracije žive u urinu i aktivnosti  $\gamma$  GT ( $p < 0,05$ ) (slika 2).

Takođe, utvrđena je statistički pozitivna korelacija između koncentracije žive u urinu i vrednosti RBP ( $p < 0,01$ ) (slika 3).

Urađena je ehosonografija bubrega grupe eksponiranih i kontrolne grupe. Prosečan uzdužni promer desnog bubrega kod eksponirane grupe je bio 106,60±9,59 mm, a debljina parenhima 17,18±3,61 mm. Kod levog bubrega prosečan uzdužni promer je bio 113,32±9,18 mm, a debljina parenhima

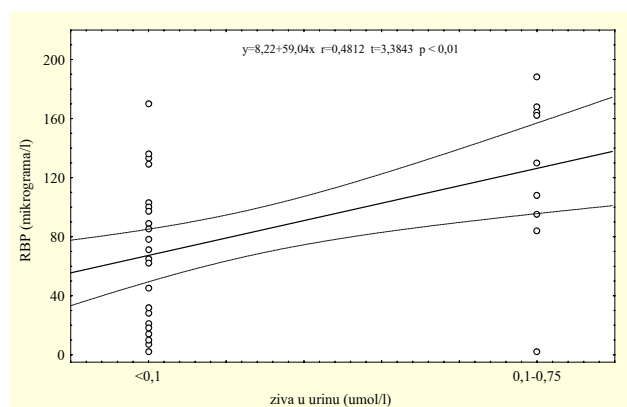


Sl. 1 – Korelacija koncentracije žive u urinu sa koncentracijom  $\beta_2$ -mikroglobulina u urinu



Sl. 2 – Korelacija koncentracije žive u urinu sa aktivnosti  $\gamma$  GT u urinu

20,20±3,65 mm. Prosečan uzdužni promer desnog bubrega kod kontrolne grupe bio je 109,06±10,98 mm, debljina parenhima 16,76±3,49 mm, a kod levog bubrega prosečna dužina bila je 111,11±8,12 mm, a debljina parenhima 20,27±3,82 mm.



Sl. 3 – Korelacija koncentracije žive u urinu i vrednosti retinol-binding protein-a (RBP) u urinu

Kod ispitanika u eksponiranoj i kontrolnoj grupi nisu nađeni bubrežni kamenci, niti znaci hidronefroze.

### Diskusija

Svi oblici žive deluju toksično na većinu organa čoveka, a posebno na bubrege<sup>1-3</sup>. Najosetljiviji deo nefrona na toksična dejstva žive je *pars recta* proksimalnih tubula<sup>8-10</sup>. Proučavanja na životinjama i iskustva sa radnicima koji su bili izloženi dejstvu žive, pokazuju da izlaganje visokim koncentracijama neorganske žive može uzrokovati bubrežno oštećenje<sup>1,3,11</sup>. Ima manje podataka o efektima na bubrege posle dugog izlaganja relativno niskim koncentracijama neorganske žive. Stepent oštećenja bubrežne funkcije zavisi od intrarenalne akumulacije žive, a markeri oštećenja bubrežne funkcije bolje korelišu sa urinarnom ekskrecijom žive<sup>12,13</sup>. Koncentracija žive u urinu korelišu sa povećanom ekskrecijom albumina, proteina i intraćelijskih enzima, kao što su laktat dehidrogenaza (LDH), aspartat aminotransferaza (AST), alanin aminotransferaza (ALT) i N-acetil-beta-D-glukozaminidaza (NAG)<sup>12-14</sup>. Sa progresijom bubrežnog oštećenja povećava se urinarna ekskrecija žive, što je u korelaciji sa stepenom akutnog tubularnog oštećenja<sup>12-17</sup>. U našem radu pokazali smo da urinarna koncentracija žive pozitivno korelišu sa aktivnošću  $\gamma$  GT i vrednostima  $\beta_2$ -mikroglobulina i RBP u urinu.

Biološka i toksikološka aktivnost živinih jona u bubrežima uglavnom se može objasniti molekulskim interakcijama. Iako brojne biološke efekte živinih jedinjenja u tkivu bubrega možemo pripisati vezivanju žive za plazma membranu ili intracelularne tirole, mnoga otkrića ukazuju na to da ovo nije jedini mehanizam dejstva<sup>12,17</sup>. Dokazano je da promenom u metabolizmu intracelularnih tiola, živa može izazvati oksidativni stres, peroksidaciju lipida, disfunkciju mitohondrija i promene u metabolizmu hema<sup>13,17</sup>. Posle ulaska žive ili njenih metil jona u ćelije proksimalnih tubula

(transportom kroz četkastu ili bazolateralnu membranu ili zajedno) dolazi do njihovog spajanja sa jedinjenjima koja sadrže tiol (uglavnom sa glutationom i metalotioneinom)<sup>18</sup>. Dolazi do promene u propustljivosti membrane za  $\text{Ca}^{2+}$  jone i inhibicije funkcije mitohondrija<sup>18</sup>. Živa indukuje sintezu glutationa, mnogih enzima zavisnih od glutationa, metalotioneina i nekoliko tzv. stres proteina (u bubrežima, jetri)<sup>18</sup>. *Pars recta* proksimalnog tubula je primarno mesto oštećenja dejstvom žive, ali i drugi segmenti nefrona mogu biti zahvaćeni. Eksperimentno je dokazano da urinarna ekskrecija žive korelišu sa stepenom oštećenja *pars recta* segmenata proksimalnih tubula tokom akutne nefropatije uzrokovane jedinjenjima neorganske žive<sup>19,20</sup>.

Oštećenje glomerula prati imunološka aktivnost i stvaranje autoantitela na bazalnoj membrani glomerula<sup>21</sup>. Uloga žive u patogenezi ovog oštećenja dokazana je u eksperimentima na životinjama, a u nekim izveštajima navodi se da izlaganje živi može dovesti do glomerulonefritisa i do nefrotskog sindroma i kod ljudi<sup>21,22</sup>. Ni kod jednog našeg ispitanika nije utvrđeno postojanje kliničko-laboratorijskih parametara koji bi upućivali na leziju glomerula.

Bencko i sar.<sup>22</sup> pokazali su da kod radnika izloženih dejstvu žive postoji povećana koncentracija serumskih proteina, u odnosu na radnike koji nisu izloženi dejstvu žive, ali u njihovom izveštaju nisu dati detalji koncentraciji žive u krvi i u urinu. Koncentracija ukupnih proteina u serumu naših ispitanika bila je u granicama normalnog.

U saopštenjima više autora nije bilo povećanja albumina u urinu pri prosečnim koncentracijama žive u urinu oko 67  $\mu\text{g/g}$  kreatinina<sup>23</sup>, niti u grupi od 60 radnika u hloralkalnoj fabrici u Finskoj pri srednjim vrednostima žive u urinu od 10,1 nmol/mmol kreatinina<sup>24</sup>. Praćenjem nivoa albuminurije kod naših ispitanika ni u jednom slučaju nismo utvrdili porast nivoa pri urinarnim koncentracijama žive do 0,75  $\mu\text{mol/l}$ .

Povećana izlučivanja manjih proteina kao što su Tam Horsfalov protein,  $\beta_2$ -mikroglobulin, RBP i razni enzimi, često su korišćeni kao indikatori oštećenja tubula. Buchet i sar.<sup>25</sup> su opisali blago povećanje  $\beta_2$ -mikroglobulina u plazmi, što je bez pratećeg povećanja urinarnog  $\beta_2$ -mikroglobulina objašnjeno redukcijom jačine glomerulske filtracije u grupi koja je izložena dejstvu žive. Stonard i sar.<sup>23</sup> našli su normalnu koncentraciju  $\beta_2$ -mikroglobulina u plazmi, ali nižu koncentraciju  $\beta_2$ -mikroglobulina u urinu u grupi izloženoj živi u odnosu na kontrolnu. Ovo je objašnjeno mogućom degradacijom proteina u urinu od strane proteaza oslobođenih iz oštećenih ćelija tubula. U našem radu dokazali smo povećanu vrednost  $\beta_2$ -mikroglobulina u urinu grupe eksponiranih u odnosu na kontrolnu grupu ( $p < 0,05$ ). Takođe, dobili smo pozitivnu korelaciju između vrednosti žive u urinu i vrednosti  $\beta_2$ -mikroglobulina u urinu ( $p < 0,05$ ). Dakle, ukoliko se povećana koncentracija  $\beta_2$ -mikroglobulina u urinu prihvata kao parametar tubulske lezije, onda ovaj parametar bolje korelišu sa urinarnom koncentracijom žive, nego sa dužinom ekspozicije živi<sup>6</sup>. Naime, naši rezultati, kao i rezultati drugih autora, pokazuju da se renalna tubulska lezija može javiti već posle dve do tri godine ekspozicije živi, a može biti odsutna i kod ekpozicija dugih po 20 godina<sup>6</sup>. Dakle, za po-



javu tubulske lezije nije važna dužina ekspozicionog staža, već urinarna koncentracija žive.

Roel i sar.<sup>26</sup> dokazali su povećano izlučivanje RBP u urinu kod radnika izloženih dejstvu žive. Bernard i sar.<sup>27</sup> pokazali su da je povećano izlučivanje RBP u urinu osetljiv pokazatelj početnog oštećenja tubula, a da nivo RBP dobro koreliše sa vrednosti  $\beta_2$ -mikroglobulina u urinu. Dokazano je da je RBP mnogo stabilniji nego  $\beta_2$ -mikroglobulin u uzorku urina sa niskim pH (< 5,5)<sup>10</sup>. U grupi eksponiranih utvrđeno je povećanje urinarne koncentracije RBP i pozitivna korelacija njegovih vrednosti sa vrednostima urinarne koncentracije žive ( $p < 0,01$ ).

Tokom ranih faza nefropatije uzrokovane živom, pre nekroze tubula, ćelije duž proksimalnih tubula prolaze kroz razne promene i počinju da gube nešto od svoje luminalne membrane<sup>28</sup>. U nekoliko ranijih studija pokazano je da je urinarna ekskrecija enzima četkastog pokrovnog epitela (alkalna fosfataza i  $\gamma$  GT) povećana u urinu kod nefropatije uzrokovane živom<sup>29,30</sup>. Kada oštećenje tubula postane ozbiljno i nekroza epitelnih ćelija tubula postane očigledna, dolazi do urinarne ekskrecije određenog broja intracelularnih enzima: LDH, AST, ALT, NAG<sup>14,16,31,32</sup>. U praćenju efekata žive na bubrežne tubule najčešće se određuje aktivnost sledećih ni enzima:  $\gamma$  GT, NAG,  $\beta$ -galaktozidaze<sup>33-35</sup>. Neki autori opisuju povećano izlučivanje NAG i  $\gamma$  GT pri srednjim vrednostima žive u urinu iznad 100  $\mu\text{g/g}$  kreatinina<sup>24</sup>, a drugi kada je koncentracija žive u urinu iznad 140  $\mu\text{g/g}$  kreatinina<sup>8</sup>. Hronično izlaganje niskim koncentracijama žive može prouzrokovati asimptomatske znakove nefrotoksičnosti, a NAG je potvrđen kao jedan od najosetljivijih indikatora oštećenja bubrežnih tubula<sup>36</sup>. Naši rezultati pokazuju porast aktivnosti  $\gamma$  GT u grupi eksponiranih, kao i pozitivnu korelaciju sa koncentracijom žive u urinu. Kod naših ispitanika pratili smo koncentracije tri proteina u urinu (albumina,  $\beta_2$ -mikroglobulina i RBP) i aktivnost kod jednog enzima tubula ( $\gamma$  GT). Cilj je bio da dokažemo oštećenje tubula i, eventualno, glomerula u asimptomatskoj fazi. Rezultati našeg istraživanja pokazuju da nema statistički značajne razlike u koncentraciji ureje i kreatinina u serumu, kao i u vrednostima klirensa kreatinina kod grupe eksponiranih i kontrolne grupe. Povećano izlučivanje RBP i  $\beta_2$ -mikroglobulina u urinu, koje je bilo u pozitivnoj korelaciji za urinarnom koncentracijom žive, ukazuje na oštećenje reapsorptivne funkcije proksimalnih tubula. S druge strane, utvrđeno povećanje aktivnosti  $\gamma$  GT kod radnika u hlorkalkalnoj fabrici, koje je takode pozitivno koreli-

rano sa koncentracijom žive u urinu, ukazuje na oštećenje ćelija tubula.

Uprkos svim merama zaštite i dozvoljenim koncentracijama žive u radnoj okolini, značajan procenat radnika u hlorkalkalnoj fabrici u Pančevu ima koncentraciju žive u urinu koja se kreće u rasponu od 0,1–0,75  $\mu\text{mol/l}$ . Kod određenog broja ovih radnika, registrovani su znaci asimptomatske tubulske lezije i disfunkcije blagog stepena. Drugi mogući tipovi renalne lezije, uključujući glomerulsku leziju i poremećaj globalne bubrežne lezije, nisu registrovani ni kod jednog ispitanika. Registrovana tubulska lezija i posledična disfunkcija ne ostavljaju značajnije posledice po zdravlje ovih radnika. Dugoročno praćenje može objasniti značaj ove lezije i njen uticaju na globalno zdravstveno stanje radnika. Takode, neophodna su dodatna ispitivanja koja bi objasnila pojavu različitih koncentracije žive u urinu kod radnika u istoj fabrici. Nije jasno da li se možda radi o drugim izvorima unosa žive u organizam (amalgamske plombe i sl.) ili o individualnim različitostima metabolizma žive unete u organizam iz radne sredine. Određivanje aktivnosti enzima u urinu ( $\gamma$  GT) i nisko molekulskih proteina ( $\beta_2$ -mikroglobulina i RBP) potvrdilo je da su oni najosetljiviji indikatori oštećenja bubrežnih tubula. Registrovanje asimptomatske tubulske lezije zahteva reviziju mera zaštite na radu i otkrivanje drugih eventualnih izvora unosa žive u organizam. Tokom istraživanja došlo se do saznanja da je tehnologija proizvodnje hlora i baze sa živinim ćelijama opasna tehnologija i da je treba zameniti membranskom tehnologijom koja u svom procesu ne koristi jedinjenja žive.

### Zaključak

Kod 25% ispitivanih radnika zaposlenih u hlorkalkalnoj fabrici u Pančevu, uprkos svim merama zaštite nadena je povećana ekskrecija žive u urinu, značajno veća u odnosu na kontrolnu grupu ispitanika. Učestalost asimptomatske renalne tubulske lezije i disfunkcije blagog stepena veća je u grupi eksponiranih, u odnosu na kontrolnu grupu ispitanika, ali ne i statistički značajno. Postojanje nedozvoljenog nivoa koncentracije žive u urinu kod dela radnika, nameće potrebu kontinuiranog praćenja njihovog zdravstvenog stanja, reevaluaciju i unapređenje postojećih mera zaštite i eventualno uvođenje novih, manje opasnih tehnologija u proizvodnju hlora.

### L I T E R A T U R A

1. Adamov Z. The effects of the long term mercury exposititu of workers [thesis]. Belgrade: School of Medicine; 1984. (Serbian)
2. Aguado S, de Quirós IF, Marín R, Gago E, Gómez E, Fernández-Vega F, et al. Acute mercury vapour intoxication: report of six cases. *Nephrol Dial Transplant* 1989; 4(2): 133–6.
3. Oliveira DB, Foster G, Savill J, Syme PD, Taylor A. Membranous nephropathy caused by mercury-containing skin lightening cream. *Postgrad Med J* 1987; 63(738): 303–4.
4. Newton JA, House IM, Volans GN, Goodwin FJ. Plasma mercury during prolonged acute renal failure after mercuric chloride ingestion. *Hum Toxicol* 1983; 2(3): 535–7.
5. Clarkson TW, Magos L. The effect of sodium maleate on the renal deposition and excretion of mercury. *Br J Pharmacol Chemother* 1967; 31(3): 560–7.
6. Cember H, Gallagher P, Faulkner A. Distribution of mercury among blood fractions and serum proteins. *Am Ind Hyg Assoc J* 1968; 29(3): 233–7.
7. Himeno S, Watanabe C, Suzuki T. Urinary biochemical changes in workers exposed to mercury vapor. *Ind Health* 1986; 24(3): 151–5.
8. Zalups RK. Method for studying the in vivo accumulation of inorganic mercury in segments of the nephron in the kidneys of rats treated with mercuric chloride. *J Pharmacol Methods* 1991; 26(2): 89–104.

9. *Zalups RK, Barfuss DW*. Transport and toxicity of methylmercury along the proximal tubule of the rabbit. *Toxicol Appl Pharmacol* 1993; 121(2): 176–85.
10. *Berlin M*. Mercury. In: *Friberg Nordberg GF, Vouk VB*, editors. Handbook on the toxicology of metals. Vol II. Amsterdam: Elsevier; 1986. p. 387–445.
11. *Grützka TL, Trump BF*. Renal tubular lesions caused by mercuric chloride. Electron microscopic observations: degeneration of the pars recta. *Am J Pathol* 1968; 52(6): 1225–77.
12. *Lund BO, Miller DM, Woods JS*. Studies on Hg(II)-induced H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> formation and oxidative stress in vivo and in vitro in rat kidney mitochondria. *Biochem Pharmacol* 1993; 45(10): 2017–24.
13. *Majkic-Singhn N*. Enzymes in the renal diseases. In: *Clinical enzymology*. Editor: AID Praktikum Belgrade; 1993. p. 334–5. (Serbian)
14. *Maruhn D*. Rapid colorimetric assay of beta-galactosidase and N-acetyl-beta-glucosaminidase in human urine. *Clin Chim Acta* 1976; 73(3): 453–61.
15. *Meyer BR, Fischbein A, Rosenman K, Lerman Y, Drayer DE, Reidenberg MM*. Increased urinary enzyme excretion in workers exposed to nephrotoxic chemicals. *Am J Med* 1984; 76(6): 989–98.
16. *Fukino H, Hirai M, Hsueb YM, Yamane Y*. Effect of zinc pretreatment on mercuric chloride-induced lipid peroxidation in the rat kidney. *Toxicol Appl Pharmacol* 1984; 73(3): 395–401.
17. *Conner EA, Fowler BA*. Mechanisms of metal-induced nephropathy. In: *Hook JB, Goldstein RS*, editors. Toxicity of the Kidney. 2nd ed. New York: Raven press; 1993. p. 437–57.
18. *Zalups RK*. Renal accumulation and intrarenal distribution of inorganic mercury in the rabbit: effect of unilateral nephrectomy and dose of mercuric chloride. *J Toxicol Environ Health* 1991; 33(2): 213–28.
19. *Zalups RK, Cherian MG*. Renal metallothionein metabolism after a reduction of renal mass. I. Effect of unilateral nephrectomy and compensatory renal growth on basal and metal-induced renal metallothionein metabolism. *Toxicology* 1992; 71(1–2): 83–102.
20. *Hultman P, Eneström S*. Mercury induced B-cell activation and antinuclear antibodies in mice. *J Clin Lab Immunol* 1989; 28(3): 143–50.
21. *Hultman P, Eneström S*. Dose-response studies in murine mercury-induced autoimmunity and immune-complex disease. *Toxicol Appl Pharmacol* 1992; 113(2): 199–208.
22. *Bencko V, Wagner V, Wagnerová M, Ondrejčák V*. Immunological profiles in workers occupationally exposed to inorganic mercury. *J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol* 1990; 34(1): 9–15.
23. *Stonard MD, Chater BV, Duffield DP, Nevitt AL, O'Sullivan JJ, Steel GT*. An evaluation of renal function in workers occupationally exposed to mercury vapour. *Int Arch Occup Environ Health* 1983; 52(2): 177–89.
24. *Piikivi L, Ruokonen A*. Renal function and long-term low mercury vapor exposure. *Arch Environ Health* 1989; 44(3): 146–9.
25. *Buchet JP, Roels H, Bernard A, Lauwerys R*. Assessment of renal function of workers exposed to inorganic lead, calcium or mercury vapor. *J Occup Med* 1980; 22(11): 741–50.
26. *Roels H, Gennart JP, Lauwerys R, Buchet JP, Malchaire J, Bernard A*. Surveillance of workers exposed to mercury vapour: validation of a previously proposed biological threshold limit value for mercury concentration in urine. *Am J Ind Med* 1985; 7(1): 45–71.
27. *Bernard AM, Vyskocil AA, Mahieu P, Lauwerys RR*. Assessment of urinary retinol-binding protein as an index of proximal tubular injury. *Clin Chem* 1987; 33(6): 775–9.
28. *Zalme RC, McDowell EM, Nagle RB, McNeil JS, Flamenbaum W, Trump BF*. Studies on the pathophysiology of acute renal failure. II. A histochemical study of the proximal tubule of the rat following administration of mercuric chloride. *Virchows Arch B Cell Pathol* 1976; 22(3): 197–216.
29. *Canon VT, Zalups RK and Barfuss DW*. The role of gamma GT on the disappearance of mercuria from the lumen of proximal tubular segments perfused with GSH and mercury. *Toxicol Sci* 1998; 42: 377.
30. *Cannon VT, Barfuss DW, Zalups RK*. Molecular homology and the luminal transport of Hg<sup>2+</sup> in the renal proximal tubule. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11(3): 394–402.
31. *Bernard A, Lauwerys R*. Epidemiological application of early markers of nephrotoxicity. *Toxicol Lett* 1989; 46(1–3): 293–306.
32. *Flynn FV*. Assessment of renal function: selected developments. *Clin Biochem* 1990; 23(1): 49–54.
33. *Morgan DB*. Assessment of renal tubular function and damage and their clinical significance. *Ann Clin Biochem* 1982; 19 (Pt 4): 307–13.
34. *Price RG*. Urinary enzymes, nephrotoxicity and renal disease. *Toxicology* 1982; 23(2–3): 99–134.
35. *Vanderlinde RE*. Urinary enzyme measurements in the diagnosis of renal disorders. *Ann Clin Lab Sci* 1981; 11(3): 189–201.
36. *Langworth S, Elinder CG, Sundquist KG, Vesterberg O*. Renal and immunological effects of occupational exposure to inorganic mercury. *Br J Ind Med* 1992; 49(6): 394–401.

Rad je primljen 15. V 2008.



## Karboanhidraza u puferskom sistemu pljuvačke kao mogući biomarker u proceni rizika od nastanka karijesa kod dece

### Caries risk estimation in children regarding values of saliva buffer system components and carboanhydrase activity

Dušan Šurdilović\*, Ivana Stojanović‡, Mirjana Apostolović\*

Medicinski fakultet, \*Klinika za stomatologiju, ‡Institut za biohemiju, Niš

#### Apstrakt

**Uvod/Cilj.** Jedan od osnovnih preduslova za efikasno sistematsko smanjenje prevalencije kao i kvalitetne profilakse karijesa je determinacija rizika njegovog nastanka. Cilj rada bio je dokazivanje značaja određivanja aktivnosti karboanhidraze u pljuvački kao validnog markera u proceni rizika od nastanka karijesa kod dece. **Metode.** Ispitivanje je obuhvatilo 123 deteta sa stalnom denticijom prosečne životne dobi  $13,4 \pm 0,3$  godine. Ispitanici su bili podeljeni u dve grupe u odnosu na rizik od nastanka karijesa (grupa sa niskim i grupa sa visokim rizikom). Svakom detetu uzeta su po dva uzorka pljuvačke – nestimulisane i stimulisane. Određivana je aktivnost pljuvačne karboanhidraze, pH vrednost pljuvačke, kao i koncentracije bikarbonatnog i fosfatnog pufera u nestimulisanoj i stimulisanoj pljuvački kod obe grupe ispitanika. **Rezultati.** Ispitivanje je pokazalo statistički značajno višu aktivnost karboanhidraze u obe vrste pljuvačke ( $p < 0,001$ ) kod dece sa niskim rizikom od karijesa. Bila su prisutne i statistički značajno veće koncentracije bikarbonatnog ( $p < 0,001$ ) i fosfatnog pufera ( $p < 0,001$ ) u obe vrste pljuvačke, kao i značajno veće pH vrednosti nestimulisane i stimulisane pljuvačke u grupi dece sa niskim rizikom od karijesa. **Zaključak.** Kod dece sa visokom aktivnošću karboanhidraze i višim vrednostima parametara puferskog sistema u pljuvački može se očekivati manja incidencija karijesa. Prezentovani rezultati sugerišu da aktivnost karboanhidraze u pljuvački deteta predstavlja važan pokazatelj njegove sklonosti ka nastanku karijesa.

#### Ključne reči:

zub, karijes; incidencija; karboanhidraze; pljuvačka; zub, gleđna kutikula; rizik, procena; deca; adolescenti.

#### Abstract

**Background/Aim.** One of the preconditions for efficacious systematic reduction of caries prevalence and prophylaxis is the determination of risks of this disease appearance. The aim of this study was to prove the significance of salivary carboanhydrase activity determination in estimation of caries risk in children. **Methods.** The study included 123 children of average age of  $13,4 \pm 0,3$  years and permanent dentition. The children were divided into two groups according to caries risk (low and high caries risk groups). Two samples of saliva – unstimulated and stimulated one were taken from each child. Salivary carboanhydrase activity, as well as pH value, bicarbonate and phosphate buffer levels were estimated in both group of saliva samples. **Results.** The investigation showed significantly higher carboanhydrase activity ( $p < 0,001$ ) in both saliva samples in low caries risk group compared to high caries risk one. In children with low caries risk, both unstimulated and stimulated saliva show significantly higher bicarbonate and phosphate buffer concentrations ( $p < 0,001$ ), as well as pH values. **Conclusion.** The lower caries incidence could be expected in children with high carboanhydrase activity and higher salivary buffer system parameters levels. The presented results suggest that salivary carboanhydrase activity represents the important marker of individual susceptibility for caries appearance in children.

#### Key words:

dental caries; incidence; carbonic anhydrases; saliva; dental pellicle; risk assessment; child; adolescent.

#### Uvod

Procena rizika od nastanka karijesa kod dece važan je dijagnostički parametar u planiranju i realizaciji odgovarajućih preventivnih mera. Uloga pljuvačke u etiopatogenezi karijesa veoma je značajna i njen sastav može biti veoma važan za razvoj ovog oboljenja<sup>1</sup>.

Osnovni, primarni puferski sistem pljuvačke, čine bikarbonatni i fosfatni pufer, dok puferski sistem pljuvačke u širem smislu čine i proteini i fluoridi. Bikarbonatni pufer je dominantni pufer tokom stimulisane sekrecije pljuvačke i predstavlja kombinaciju bikarbonata i ugljene kiseline ( $H_2CO_3$ ). Njegova koncentracija u nestimulisanoj pljuvački iznosi 1 mM, dok stimulacijom salivacije koncentracija tog

pufera dostiže vrednost od 60 mM. Bikarbonati uglavnom nastaju u acinusima parotidne pljuvačne žlezde. Iz toga sledi da je najjača funkcija bikarbonatnog pufera izražena tokom unosa hrane (stimulacija lučenja pljuvačke) i predstavlja se već pomenutom jednačinom reverzibilne hidratacije ugljen-dioksida:  $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$ <sup>2,3</sup>. Bikarbonatni joni difunduju i u dentalni plak neutrališući kisele produkte bakterija. Poznato je da sa povećanjem lučenja pljuvačke dolazi i do rasta nivoa bikarbonata koji su produkt ćelijskog metabolizma, pa stimulirana pljuvačka sadrži značajno više bikarbonata od nestimulirane, što je i fiziološki opravdano, jer se tokom unosa hrane značajno povećava produkcija kiselina. U tim uslovima puferski efekat bikarbonata je maksimalan, a pH vrednost stimulirane pljuvačke zavisna je od njihove koncentracije<sup>4</sup>.

Fosfatni pufer je dominantni pufer nestimulirane pljuvačke. Pufer predstavlja kombinaciju primarnog i sekundarnog fosfata ( $\text{H}_2\text{PO}_4^{2-}$  i  $\text{HPO}_4^{3-}$ ), čija koncentracija u nestimuliranoj pljuvački iznosi 7–8 mM, dok se za vreme stimulirane salivacije ta vrednost smanjuje na 2–3 mM<sup>5</sup>. Koncentracija tog pufera od 7 do 8 mM u nestimuliranoj pljuvački dovodi do snižavanja pH pljuvačke sve do 6,1, zbog čega ona postaje blago zakišeljena. Blaga kiselost povećava moć rastvaranja pljuvačke u uslovima pri kojima je ukupna zapremina nestimulirane pljuvačke 20–30 puta manja. Efekti samočišćenja u tom slučaju neće biti 20–30 puta manji, već, naprotiv, veći<sup>3</sup>. Porast koncentracije fosfata deluje na adsorbirane salivane glikoproteine desorbirajuće, tako da se formirana zubna pelikula razgrađuje i uklanja sa površine zuba, a zubi čiste od ovih naslaga. Zbog te funkcije, fosfatni pufer je u pravom smislu reči čistač oralne sredine<sup>3,6</sup>.

Karboanhidraza (CA) je cink metaloenzim čija aktivnost je u ljudskoj pljuvački poznata skoro 70 godina<sup>7</sup>. Do pre nekoliko godina veoma mali broj studija bavio se fiziološkom ulogom CA u pljuvački<sup>2,8,9</sup>. Ovaj enzim prvi put izolovali su Murakami i Sly<sup>10</sup> iz humane pljuvačke. Imunohistohemijske studije ukazuju na lokalizaciju sekrecije CA kod ljudi isključivo u sekretornim granulama acinusnih ćelija parotidne i submandibularne žlezde<sup>11</sup>. Kadoya i sar.<sup>12</sup> ističu da CA reguliše pH i puferski kapacitet pljuvačke. Međutim, druga grupa autora, dolazi do rezultata koji ove varijabile ne dovodi u direktnu vezu sa aktivnošću CA u pljuvački<sup>13–15</sup>. Izgleda da CA nije direktno uključena u regulaciju pH pljuvačke i njenog puferskog kapaciteta. Takođe, nije uočena ni korelacija koncentracije CA i nivoa mutans streptokoka ili laktobacila<sup>1</sup>. Istraživanje Leinonen i sar.<sup>16</sup> ukazuje na vezivanje CA VI za glednu pelikulu, uz prisutnu enzimsku aktivnost na površini zuba. Smatra se da u glednoj pelikuli CA VI katalizuje konverziju bikarbonata i vodonikovih jona (koji nastaju aktivnošću mikroba) u ugljen-dioksid i vodu u pljuvački.

Cilj rada bio je da se ispitivanjem aktivnosti karboanhidraze i komponata puferskog sistema (pH vrednosti pljuvačke i koncentracije fosfatnog i bikarbonatnog pufera) u nestimuliranoj i stimuliranoj pljuvački dece sa izrazito visokim i izrazito niskim rizikom od nastanka karijesa utvrdi da li se na osnovu vrednosti ovih biomarkera pljuvačke može proceniti rizik od nastanka karijesa.

## Metode

Prospektivnom studijom bilo je obuhvaćeno 123 dece sa stalnom denticijom, koja su bila približno jednake polne zastupljenosti, a srednje životne dobi  $13,4 \pm 0,3$  godina (stratifikovan uzorak). Razlog za odabira dece viših razreda osnovne škole sa prisutnom stalnom denticijom, bila je namera da se izbegne mešovita denticija, jer je KEP (K = karijes, E = ekstrahovani, P = plombirani, što predstavlja ukupan broj zuba sa karijesom, zuba sa plombom i izvađenih zuba) u uslovima mešovite denticije u velikoj meri posledica karijesa mlečnih zuba, čime bi bila maskirana prava slika o KEPu bolesnika i dobijeni rezultati kompromitovani.

Svakom bolesniku obavljen je sistematski stomatološki pregled zuba i određen KEP stalnih zuba. Bolesnici su zatim podeljeni prvo u dve grupe, na osnovu KEPa svakog deteta. Prva grupa ispitanika obuhvatila je 52 bolesnika čiji je prosečan KEP bio nula (0) – deca sa niskim rizikom od nastanka karijesa. U drugoj grupi nalazio se 71 bolesnik čiji je prosečan KEP bio 7,7 – deca sa visokim rizikom od nastanka karijesa. Ovim putem definisane su četiri grupe uzoraka pljuvačke (tabela 1).

Bolesnicima iz obe grupe uzeta su po dva uzorka pljuvačke: nestimulirane i stimulirane. Uzorci pljuvačke sakupljeni su u sterilne epruvete. Uzorci nestimulirane pljuvačke uzimani su između obroka, skupljanjem pljuvačke trenutno prisutne u ustima pre podne. Uzorci stimulirane pljuvačke uzimani su nakon što su ispitanici, takođe između obroka u jutarnjim časovima, žvakali medicinski parafin pet minuta, što je izazivalo obimnu sekreciju stimulirane pljuvačke. Epruvete su istog trenutka zatvarane da bi se sprečio gubitak bikarbonata iz uzoraka. U uzorcima je odmah određivana vrednost pH (pH-metrom) i koncentracija bikarbonata titracijom sa 0,1 M HCl u rasponu od pH 7 do pH 3, u volumenu od 5  $\mu\text{l}$ <sup>17</sup>.

Koncentracija fosfata određivana je molibdenskom reakcijom po spektrofotometrijskoj metodi Goldenberga i Fernandez<sup>18</sup>, koju su modifikovali Bardow i sar.<sup>17</sup>. Pljuvački je dodavana reakciona smeša [10% trihlorisirćetna kiselina (TCA), 1% urea i 3% Morova so]. Nakon 10 minuta vršeno je centrifugiranje i supernatantima dodavani koncentrovana  $\text{H}_2\text{SO}_4$  i 4,5% amonijum-molibdat u dejonizovanoj vodi. Nakon 20 minuta apsorbancija je merena na 700 nm. Standardna kriva pravljen je u rasponu od 0 do 10  $\mu\text{mol/l}$  fosfata.

Aktivnost CA određivana je spektrofotometrijskom metodom po Armstrongu i sar.<sup>19</sup>, modifikovanom po Polatu i Nalbantoglu<sup>20</sup>. Kao supstrat korišćen je p-nitrofenilacetat (Sigma Chemical Co, St. Louis), a jedinica enzimske aktivnosti izražavana je kao 1  $\mu\text{mol}$  p-nitrofenola koji se oslobađa za 1 minut na sobnoj temperaturi. Kao inhibitor CA korišćen je acetazolamid (Sigma Chemical Co, St. Louis).

Statistička obrada urađena je programima Excel 2007 i SPSS 11.0 u Windows XP okruženju, pri čemu su rezultati prikazani tabelarno.

## Rezultati

U grupi dece sa niskim rizikom od karijesa prosečna pH vrednost stimulisane pljuvačke bila je statistički značajno viša ( $p < 0,001$ ) u odnosu na vrednosti u nestimulisanoj pljuvački, dok je u grupi dece sa visokim rizikom od nastanka karijesa srednja vrednost pH stimulisane pljuvačke bila značajno niža ( $p < 0,01$ ) u poređenju sa nestimulisanim pljuvačkom (tabela 1). U grupi dece sa visokim rizikom od karijesa vrednosti pH pljuvačke bile su statistički značajno niže ( $p < 0,001$ ) u odnosu na grupu sa niskim rizikom od karijesa, kako u bazalnim uslovima, tako i nakon stimulacije.

Vrednosti fosfata nestimulisane i stimulisane pljuvačke u obe ispitivane grupe dece ukazuju na veoma izraženi porast koncentracije nakon stimulacije ( $p < 0,001$ ) (tabela 1). U grupi ispitanika sa niskim rizikom od karijesa uočena su značajno više vrednosti fosfata, kako u nestimulisanoj ( $p < 0,001$ ), tako i u stimulisanom pljuvački ( $p < 0,001$ ) u odnosu na ispitivanu grupu sa visokim rizikom od karijesa.

Rezultati u tabeli 1 pokazuju i da je nivo bikarbonata u nestimulisanoj pljuvački u grupi dece sa niskim rizikom od karijesa bio značajno niži ( $13,17 \pm 0,93$  mmol/l;  $p < 0,001$ ) u odnosu na vrednosti bikarbonata u stimulisanom pljuvački dece iste ispitivane grupe ( $18,35 \pm 1,12$  mmol/l). Vrednosti bikarbonata u nestimulisanoj i stimulisanom pljuvački dece sa visokim rizikom od nastanka karijesa pokazale su isti trend promena ( $p < 0,001$ ). U nestimulisanoj i stimulisanom pljuvački dece se niskim rizikom od karijesa koncentracija fosfata bila je statistički značajno viša ( $p < 0,001$ ) od vrednosti u grupi sa visokim rizikom od karijesa.

## Diskusija

Rezultati istraživanja potvrđuju stav da je sposobnost stimulisane pljuvačke da smanji lokalnu kiselost veoma važan faktor u redukciji karijesa<sup>21</sup>. Dugotrajno stimulisanje pljuvačke dovodi do smanjenja njenog puferskog kapaciteta, jer se smanjuje ukupna količina bikarbonata. Prilikom dugotrajne stimulacije (npr. žvakaćim gumama), pada vrednost bikarbonata na oko  $15 \mu\text{mol/l}$ , čime se iscrpljuje njena puferska moć i pored prisutne dalje stimulacije. Kako pH vrednost pljuvačke zavisi od prisustva specifičnih pufera u njoj, čija je sinteza u pljuvačnim žlezdama genetski određena, gotovo je nemoguće uticati na promenu fizioloških pH vrednosti, koje su individualne i sklone blagim varijacijama<sup>22</sup>.

Analizom dobijenih rezultata može se zaključiti da stimulacija lučenja pljuvačke kod dece sa visokim rizikom od karijesa dovodi do pada pH vrednosti ukupne pljuvačke, što ima za posledicu lokalno povećanje kiselosti sa posledičnom mogućnošću razvoja velikog broja karijesnih lezija. Vrednosti dobijene u ovom istraživanju u saglasnosti su sa rezultatima drugih autora<sup>23</sup>, koji ističu značaj individualnih varijacija pH vrednosti stimulisane pljuvačke u nastanku i evoluciji karijesa. Rezultati pomenutih autora govore u prilog tome da viša pH vrednost stimulisane pljuvačke značajno utiče na smanjenje kiselosti na površini zuba, čime se smanjuje i oslobađanje  $\text{H}^+$  jona sa površine gleđi, što za krajnji rezultat ima smanjenje broja novonastalih karijesnih lezija. Značajno veće vrednosti pH i u nestimulisanoj i u stimulisanom pljuvački u grupi ispitanika sa niskim rizikom od karijesa ukazuju da pH vrednost pljuvačke ima značajnu ulogu u redukciji karijesa kod dece i potvrđuje podatke iz literaturne da je ona jedan od važnih parametara u proceni rizika od nastanka karijesa<sup>22</sup>.

Tabela 1

Aktivnost karboanhidraze, vrednost pH, fosfata i bikarbonata u pljuvački dece sa niskim i visokim rizikom od karijesa

Rizik od karijesa	Vrsta pljuvačke	Karboanhidaza (IJ/min/ml)	pH	Fosfati (mmol/l)	Bikarbonati (mmol/l)
Nizak	nestimulisana	$3,97 \pm 0,86$	$6,66 \pm 0,32$	$5,61 \pm 0,3$	$13,17 \pm 0,93$
	stimulisana	$7,26 \pm 0,83$	$6,8 \pm 0,22$	$8,68 \pm 2,2$	$18,35 \pm 1,12$
Visok	nestimulisana	$1,75 \pm 0,42$	$6,21 \pm 0,34$	$4,06 \pm 1,2$	$7,38 \pm 0,95$
	stimulisana	$4,41 \pm 0,56$	$6,12 \pm 0,39$	$6,22 \pm 0,8$	$12,36 \pm 1,78$

U stimulisanom pljuvački dece sa niskim rizikom od karijesa srednja vrednost aktivnosti CA pokazivala je visoko značajan porast ( $p < 0,001$ ) u odnosu na bazalne uslove (tabela 1). Takođe, u grupi ispitanika sa visokim rizikom od karijesa srednja vrednost aktivnosti CA u nestimulisanoj pljuvački bila je značajno niža ( $p < 0,001$ ) u poređenju sa stimulisanom pljuvačkom dece iste grupe. Pri poređenju aktivnosti CA ispitivanih grupa uočene su značajne razlike u odnosu na vrstu pljuvačke i nivo rizika od karijesa: ispitivana grupa sa niskim rizikom od karijesa imala je značajno višu aktivnost ( $p < 0,001$ ) ovog enzima i u nestimulisanoj i u stimulisanom pljuvački u odnosu na vrednosti kod dece sa visokim rizikom od karijesa.

U obe ispitivane grupe vrednosti fosfata u stimulisanom pljuvački bile su statistički značajno veće, što je u skladu sa istraživanjima drugih autora<sup>24, 25</sup>. To se može objasniti činjenicom da su vrednosti u nestimulisanoj pljuvački u izvesnoj meri kompromitovane činjenicom da je fosfatni pufer već aktivan u usnoj duplji i da se veći deo ukupne količine fosfata već potrošio neutrališući kiselost u ustima i održavajući pljuvačku u uslovima njene individualne fiziološke homeostaze<sup>24-26</sup>. Za razliku od rezultata u nestimulisanoj pljuvački, koja u sebi sadrži kvantitativno delimično istrošeni fosfatni pufer, prikupljanjem stimulisane pljuvačke dobija se uzorak sa visokom koncentracijom fosfata<sup>17</sup>.

Bardow i sar.<sup>24</sup> ističu da je koncentracija neorganskih fosfata, poput koncentracije bikarbonata u celoj pljuvački zavisna i od stepena lučenja. U fiziološkim uslovima, pri intenzitetu lučenja nestimulisane pljuvačke od 0,55 ml/min, sistem fosfatnog pufera predstavlja oko polovinu ukupnog puferskog kapaciteta između pH 5 i pH 7. Doprinos fosfatnog pufera u stimulisanoj pljuvački, čiji je prosečni intenzitet lučenja 1,66 ml/min, znatno je manji, zbog manje koncentracije fosfata<sup>17</sup>. Po Kreusseru i sar.<sup>27</sup> osnovna koncentracija HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup> jona raste sa povećanjem lučenja pljuvačke, praćenog povećanjem pH vrednosti pljuvačke.

I u stimulisanoj pljuvački uočavaju se statistički značajno niže vrednosti bikarbonatnog pufera u grupi sa visokim rizikom od karijesa u odnosu na grupu niskog rizika od karijesa, što je u saglasnosti sa podacima iz literature<sup>17, 24</sup>. Ako se zna da je bikarbonatni pufer primarni pufer stimulisane pljuvačke, visoke vrednosti u stimulisanoj pljuvački u grupi niskog rizika od karijesa svakako idu u prilog činjenici da je visoki kapacitet ovog pufera značajni faktor koji doprinosi smanjenju kiselosti usne duplje<sup>3</sup>. Kako je lučenje stimulisane pljuvačke u fiziološkim uslovima uglavnom izazvano unosom hrane, uloga ovog pufera veoma je važna upravo nakon unosa hrane, pri čemu dolazi do reakcije neutralizacije ostataka hrane.

Prezentovani rezultati ukazuju na izrazito veću aktivnost CA u grupi dece sa niskim karijes rizikom u odnosu na grupu sa visokim rizikom od karijesa i u nestimulisanoj i u stimulisanoj pljuvački. Na osnovu dobijenih rezultata može se reći da visoka aktivnost CA pozitivno koreliše sa padom incidencije karijesa kod dece. Ovi rezultati su u saglasnosti sa podacima iz literature<sup>8, 28, 29</sup>. Dobijeni rezultati ukazuju na

značajno veću aktivnost CA u stimulisanoj pljuvački obe ispitivane grupe, što potvrđuje da je aktivnost ovog enzima veoma izražena upravo u periodu stimulisane salivacije, kada je potreba za neutralizacijom kiselina najveća. Nažalost, poznato je da su intenzitet sekrecije CA u usnu duplju, a samim tim i posledično povećana aktivnost CA, nasledno određeni parametri, kao uostalom, i pH vrednost pljuvačke, te je nemoguće uticati na količinu CA u pljuvački.

Ako se uzme u obzir pozitivna korelacija koncentracije CA i lučenja pljuvačke i negativna korelacija CA sa KIPs indeksom, skorašnja istraživanja ukazuju da CA u pljuvački ima važnu ulogu u zaštiti zuba od karijesa i kod odraslih ljudi<sup>1</sup>. Istraživanja Leinonena i sar.<sup>16</sup> pokazuju da se CA vezuje za glednu pelikulu i održava svoju enzimsku aktivnost na površini zuba. U pelikuli, CA locira se na optimalnim mestima gde katališe pretvaranje salivarnih bikarbonata i vodonikovih jona mikrobnog porekla do ugljen-dioksida i vode. Na taj način ona ostvaruje svoju pretpostavljenu ulogu u ubravanju eliminacije kiselina na površini zuba.

### Zaključak

Kod dece sa visokom aktivnošću CA i višim vrednostima parametara puferskog sistema u pljuvački može se očekivati manja incidencija karijesa, što sugeriše da aktivnost CA u pljuvački dece predstavlja važan pokazatelj sklonosti pojedinca za nastanak karijesa. Takođe, aktivnost ovog enzima i vrednosti ispitivanih parametara puferskog sistema pljuvačke mogu biti značajni biomarkeri u proceni rizika od nastanka karijesa kod dece.

### L I T E R A T U R A

1. *Lenander-Lumikari M, Loimaranta V.* Saliva and dental caries. *Adv Dent Res* 2000; 14: 40–7.
2. *Kivela J, Parkkila S, Parkkila AK, Leinonen J, Rajaniemi H.* Salivary carbonic anhydrase isoenzyme VI. *J Physiol* 1999; 520 Pt 2: 315–20.
3. *Andić J.* Oral homeostasis. Beograd: Nauka; 2000. (Serbian)
4. *Bite Sized.* Tutorials. Salivary Buffering, Bicarbonate and pH. Available from: <http://www.ncl.ac.uk/dental/oralbiol/oralenv/tutorials/bicarbonate.thm>
5. *Amerongen AV, Veerman EC.* Saliva – the defender of the oral cavity. *Oral Dis* 2002; 8(1): 12–22.
6. *Phoebe WA.* Medical approach to the diagnosis and treatment of dental caries. *AHIP Coverage Magazine* 2006. Available from: <http://www.ahip.org>
7. *Backs H, Wiamwright WW.* Human saliva. *J Dent Res* 1939; 18: 447–56.
8. *Szabó I.* Carbonic anhydrase activity in the saliva of children and its relation to caries activity. *Caries Res* 1974; 8(2): 187–91.
9. *Kimoto M, Kishino M, Yura Y, Ogawa Y.* A role of salivary carbonic anhydrase VI in dental plaque. *Arch Oral Biol* 2006; 51(2): 117–22.
10. *Murakami H, Sly WS.* Purification and characterization of human salivary carbonic anhydrase. *J Biol Chem* 1987; 262(3): 1382–8.
11. *Parkkila S, Kaunisto K, Rajaniemi L, Kumpulainen T, Jokinen K, Rajaniemi H.* Immunohistochemical localization of carbonic anhydrase isoenzymes VI, II, and I in human parotid and submandibular glands. *J Histochem Cytochem* 1990; 38(7): 941–7.
12. *Kadoya Y, Kuvahara H, Shimazaki M, Ogawa Y, Yagi T.* Isolation of a novel carbonic anhydrase from human saliva and immunohistochemical demonstration of its related isozymes in salivary gland. *Osaka City Med J* 1987; 33(1): 99–109.
13. *Parkkila S, Parkkila AK, Vierjoki T, Ståhlberg T, Rajaniemi H.* Competitive time-resolved immunofluorometric assay for quantifying carbonic anhydrase VI in saliva. *Clin Chem* 1993; 39(10): 2154–7.
14. *Kivela J, Parkkila S, Metteri J, Parkkila AK, Toivanen A, Rajaniemi H.* Salivary carbonic anhydrase VI concentration and its relation to basic characteristics of saliva in young men. *Acta Physiol Scand* 1997; 161(2): 221–5.
15. *Thatcher BJ, Doherty AE, Orvisky E, Martin BM, Henkin RI.* Gustin from human parotid saliva is carbonic anhydrase VI. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 250(3): 635–41.
16. *Leinonen J, Kivela J, Parkkila S, Parkkila AK, Rajaniemi H.* Salivary carbonic anhydrase isoenzyme VI is located in the human enamel pellicle. *Caries Res* 1999; 33(3): 185–90.
17. *Bardow A, Moe D, Nyvad B, Nauntofte B.* The buffer capacity and buffer systems of human whole saliva measured without loss of CO<sub>2</sub>. *Arch Oral Biol* 2000; 45(1): 1–12.
18. *Goldenberg H, Fernandez A.* Simplified method for the estimation of inorganic phosphorus in body fluids. *Clin Chem* 1966; 12(12): 871–82.

19. *Armstrong JM, Myers DV, Verpoorte JA, Edsall JT.* Purification and properties of human erythrocyte carbonic anhydrases. *J Biol Chem* 1966; 241(21): 5137–49.
20. *Polat MF, Nalbantoglu B.* In vitro esterase activity of carbonic anhydrase on total esterase activity level in serum. *Turk J Med Sci* 2002; 32: 229–302.
21. *Lagerlöf F, Oliveby A.* Caries-protective factors in saliva. *Adv Dent Res* 1994; 8(2): 229–38.
22. *Marković D.* Saliva. In: *Vulović M, Beloica D, Gajić M, Marković DJ*, editors. Preventive dentistry. Belgrade; Elit Medica; 2002. p. 48–55. (Serbian)
23. *Larsen MJ, Jensen AF, Madsen DM, Pearce EI.* Individual variations of pH, buffer capacity, and concentrations of calcium and phosphate in unstimulated whole saliva. *Arch Oral Biol* 1999; 44(2): 111–7.
24. *Bardow A, Ten Cate JM, Nauntofte B, Nyrud B.* Saliva composition and tooth demineralisation: effect of systemic medication. *J Dent Res* 2000b; 5: 244–7.
25. *Javed M, Shabid SM, Zia-ul-Islam, MAbboob T.* Serum calcium, phosphate, fluoride and lactic acid in dental caries. *Shiraze E Med* 2006; 7(1): 1–8.
26. *Poureslami HR, Torkezadeh M, Sejadini MR.* Study of changes in phosphate, calcium and fluoride ions in plaque and saliva after the administration of a fluoride mouth rinse. *J Indian Soc Pedod Prev Dent* 2007; 25(3): 122–5.
27. *Kreusser W, Heidland A, Hennemann H, Wigand ME, Knauf H.* Mono- and divalent electrolyte patterns, pCO<sub>2</sub> and pH in relation to flow rate in normal human parotid saliva. *Eur J Clin Invest* 1972; 2(6): 398–406.
28. *Parkkila S, Parkkila AK, Lehtola J, Reiniälä A, Södervik HJ, Rannisto M*, et al. Salivary carbonic anhydrase protects gastroesophageal mucosa from acid injury. *Dig Dis Sci* 1997; 42(5): 1013–9.
29. *Kiveli J, Parkkila S, Parkkila AK, Rajaniemi H.* A low concentration of carbonic anhydrase isoenzyme VI in whole saliva is associated with caries prevalence. *Caries Res* 1999; 33(3): 178–84.

Rad je primljen 26. V 2008.



## Ispitivanje uticaja primene fibrinskog lepka sa antibioticima na produkciju kolagena kod anastomoza kolona

### Determination of fibrin glue with antibiotics on collagen production in colon anastomosis

Zoran Stanojković\*, Goran Stanojević†, Miroslav Stojanović†,  
Dragan Milić‡, Saša Živić‡

Klinički centar, \*Zavod za transfuziju krvi, †Klinika za opštu hirurgiju,  
‡Klinika za vaskularnu hirurgiju, Niš

#### Apstrakt

**Uvod/Cilj.** Fibrinski lepak upotrebljava se kao matriks za lokalnu aplikaciju antibiotika. Cilj rada bio je da utvrdi da li primena fibrinskog lepka u kombinaciji sa antibioticima može da pojača produkciju kolagena, da spreči dehiscenciju anastomoze kolona nastale zbog infekcije i da smanji učestalost mortaliteta i morbiditeta u odnosu na kontrolnu grupu i grupu sa primenom samog fibrinskog lepka. **Metode.** Eksperimenti su sprovedeni na odraslim mužjacima pacova Wistar soja kojima je, posle parcijalne resekcije kolona, kontinuitet creva ponovo uspostavljen izvođenjem terminoterminalne anastomoze. Životinje su bile podeljene u tri grupe. Grupa 1 bila je kontrolna, grupu 2 činile su životinje kod kojih je na mestu anastomoze primenjen fibrinski lepak, a grupu 3 životinje kod kojih je primenjen fibrinski lepak sa antibioticima (klindamicin i ceftraksion). U cilju procene kvaliteta i jačine anastomoze, petog, sedmog i 13. dana posle operacije u zidu kolona na mestu anastomoze određivana je koncentracija kolagena (L-hidroksiprolina) i vršena histološka analiza tog dela kolona pomoću svetlosnog i elektronskog mikroskopa. **Rezultati.** Najveća incidencija obolovanja posle izvršenog operativnog zahvata zabeležena je u grupi 1 (30% životinja), zatim u grupi 2 (13,3% životinja), dok je najmanja registrovana u grupi 3 (3,33% životinja;  $p < 0,05$  prema grupi 1). Mortalitet je bio značajno veći u grupi 1 (20%) u odnosu na grupu 3 u kojoj nije uginula niti jedna životinja ( $p < 0,05$ ). U postoperativnom toku, najviše koncentracije kolagena u zidu kolona na mestu anastomoze nađene su kod životinja grupe 3, što je potvrđeno i svetlosnom i elektronskom mikroskopijom. **Zaključak.** Primenom fibrinskog lepka sa antibioticima, kod izvođenja anastomoze na kolonu, postiže se manji broj dehiscencija, dobra mehanička zaštita i skraćuje se vreme zarastanja anastomoza.

#### Ključne reči:

hirurgija digestivnog sistema, procedure; tkivni lepkovi, fibrinski; antibiotici; kolon; lečenje, ishod; postoperativne komplikacije; kolagen.

#### Abstract

**Background/Aim.** Fibrin glue is used as a matrix for local application of antibiotics. The aim of this study was to determine whether application of fibrin glue in combination with antibiotics can strengthen collagen production, prevent dehiscence of colon anastomoses due to infection, and reduce frequency of mortality and morbidity comparing to the control group and the group with fibrin glue application. **Methods.** The adult male Wistar rats divided into three groups were used in the experiment. The group 1 was the control one (after partial colon resection, colonic anastomoses performed were not treated), while to the group 2 and the group 3 were applied fibrin glue and fibrin glue with antibiotics (clindamycin and ceftriaxon) on the site of anastomoses, respectively. Quality of colonic anastomoses were estimated by means of determination of collagen (L-hydroxyproline) amount in the collon wall with anastomoses and histological analysis of this colon segment using light and electronic microscope on the days 5, 7 and 13 postoperatively. **Results.** The highest morbidity rate was registered in the group 1 (30%), then in the group 2 (13.3%) and the lowest one in the group 3 (3.33%;  $p < 0,05$  vs group 1). Mortality rate was significantly higher in the group 1 than in the group 3 (20% and 0%, respectively;  $p < 0,05$ ). In the postoperative course, the highest concentrations of collagen in the colon wall on the site of anastomoses, which was confirmed by both light and electronic microscopy, were found in the group 3. **Conclusion.** The application of fibrin glue with antibiotics on colon anastomoses reduces the number of dehiscence, provides good mechanical protection and shorten the time of anastomoses healing.

#### Key words:

digestive system surgical procedures; fibrin tissue adhesive; antibiotics; colon; treatment outcome; postoperative complications; collagen.



## Uvod

Transfuziološko lečenje danas predstavlja realan i racionalan terapijski modalitet, pri čemu se maksimalno poštuje naučni pristup, ne samo prilikom primene krvi nego i tokom zbrinjavanja i prevencije nepovoljnih efekata hemoterapije. Transfuzologija danas objedinjuje i održava ekspanziju saznanja u oblasti biologije krvi, fiziologije, imunologije, bihemije, genetike i srodnih grana medicine, kao i na polju biotehnologije<sup>1,2</sup>.

Fibrinski lepak (*fibrin glue, fibrin klebung, fibrin sealant*) je biološki terapijski agens dobijen iz ljudske krvi zahvaljujući brzom razvoju transfuziologije tokom poslednje dve decenije. Činjenica da predstavlja terapijski agens čije se dejstvo bazira na biološkim i fiziološkim principima dovela je do njegove široke primene u svim granama hirurgije<sup>3-5</sup>. Ohrabrujući rezultati eksperimentne studije usloveli su početak primene ove metode u kliničkoj praksi. Athanasiadis i sar. 1984. godine prvi su sproveli veću kliničku studiju sa 45 bolesnika kod kojih su izvedene anastomoze na kolonu i rektumu i kod kojih je lokalno primenjivan fibrinski lepak. Registrovane su samo dve radiološki evidentirane dehiscencije kolona i rektuma<sup>6-10</sup>.

Fibrinski lepak koji danas ima široku primenu u savremenoj hirurškoj praksi je hemostatsko-adhezivna supstancija. To je dvokomponentni biološki sistem, sa lokalnim hemostaznim, adhezivnim, zaptivnim i drugim efektima. S obzirom na to da se radi o produktu prirodnog, a najvećim delom i humanog porekla, on nije tkivno-toksičan, biodegradabilan je, a pojava hetero- ili aloantitela po primeni je retka. Smatra se da bi osobine takvog hemostazno-adhezivnog sistema najviše odgovarale svojstvima nekog idealnog hirurškog lepka. Svojstva fibrinskog lepka u velikoj meri su determinisana sadržajem fibrinogena, faktora XIII koagulacije i fibronektina, ali i drugih konstituenata. Komponenta 1 sadrži koncentrovani fibrinogen, fibronektin, faktor XIII koagulacije i još neke krioprecipitativne konstituense plazme. Ona može biti uskladištena u zamrznutom ili u liofilizovanom stanju. Komponenta 2 sadrži govedi trombin u liofilizovanom obliku koji se najčešće rekonstituiše pomoću adekvatne količine (40 mmol/l) rastvora kalcijum hlorida<sup>11</sup>.

Spajanje ivica/površina rane već se dugo efektivno izvodi pomoću hirurških šavova. Njih karakteriše visoka mehanička čvrstina i relativno jednostavno izvođenje, ali i teško postavljanje šavova u parenhimatoznim organima, otežana tkivna perfuzija u zašivenoj rani i ograničene mogućnosti manuelne tehnike u mikrohirurgiji. Korišćenjem savremene opreme za aplikaciju mikrohirurških šavova, elektro- i sonokautera, plastičnih vaskularnih kaleмова, metalnih i drugih proteza, sintetskih materija za lokalnu upotrebu, navedeni problemi samo delimično mogu biti rešeni. Uvođenje i usavršavanje sintetskih, a posebno bioloških lepaka, doprinelo je postizanju većeg terapijskog učinka. Bilo je potrebno neprekidno raditi na uvođenju i usavršavanju alternativnih postupaka pripremanja fibrinogena za fibrinski lepak.

Osnovne karakteristike krioprecipitacijskog pripremanja fibrinogena iz jedne jedinice plazme su jednostavno i la-

ko izvođenje, široka primenljivost i reproducibilnost i ekonomičnost. Pri tome, rizik od virusnih infekcija jednak je riziku aplikacije jedne jedinice krvi/plazme. Pogodnost ovog postupka je u korišćenju „zatvorenog“ sistema (za razliku od navedenih precipitacijskih tehnika). S obzirom na to da su koncentracija i funkcionalna aktivnost proteina plazme (npr. faktora XIII koagulacije) u produktima srazmerni, zaključeno je da tokom krioprecipitacije ne dolazi do denaturacije proteina. Radi povećanja prinosa fibrinogena u krioprecipitatu, uvedene su dvostruka krioprecipitacija i trostruka krioprecipitacija – korišćena u ovom radu i označena kao reciklažna krioprecipitacija<sup>11-14</sup>.

Oboljenja kolona savremene ljudske populacije, karakteriše tendencija stalnog rasta. Najznačajnije oboljenje je karcinom, koji je danas najčešće maligno oboljenje gastrointestinalnog trakta. Učestalost ovog oboljenja raste sa starenjem i dostiže vrhunac u odmakloj starosti od 80 godina<sup>15</sup>.

U najvećem broju slučajeva patoloških stanja na kolonu hirurška terapija je terapija izbora. Hirurške intervencije veoma su složene i delikatne. Složenost i delikatnost izvođenja anastomoza rezultat je dobro poznatih i definisanih specifičnih anatomskih, fizioloških i mikrobioloških osobina kolona: ograničena dužina (1,5–2 m), tanji crevni zid u odnosu na tanko crevo, postojanje retroperitoneumskih delova bez seroze, specifična vaskularizacija, prisustvo bogate mešovite aerobno-anaerobne mikrobiološke flore. Dehiscencije anastomoza, nisu retke i veoma su opasne postoperativne komplikacije u gastrointestinalnoj hirurgiji, a iz ovih razloga znatno su češće kod hirurških intervencija na kolonu u odnosu na druge delove digestivnog trakta. I pored nesumnjivog napretka ostvarenog tokom poslednje tri decenije u hirurškoj tehnici, šavnom materijalu, efikasnoj preoperativnoj pripremi, antibiotskoj terapiji, anesteziji, još uvek je prisutna nedozvoljivo visoka učestalost dehiscencija anastomoza kolona, koja se danas u elektivnim hirurškim zahvatima kreće u rasponu 3–10%, a kod urgentnih čak i do 30%<sup>15-17</sup>.

Cilj rada bio je da utvrdi da li primena fibrinskog lepka u kombinaciji sa antibioticima može da pojača produkciju kolagena, da spreči dehiscenciju anastomoze kolona nastale zbog infekcije i da smanji učestalost mortaliteta i morbiditeta u odnosu na kontrolnu grupu i grupu sa primenom samog fibrinskog lepka.

## Metode

Istraživanje je sprovedeno na Wister pacovima muškog pola, telesne mase 350–490 g.

Ono se sastojalo iz: pripreme fibrinskog lepka, izvođenja hirurških intervencija na životinjama, žrtvovanja životinja i određivanja kvaliteta i jačine anastomoze na osnovu: koncentracije kolagena (hidroksiprolina) u zidu kolona na mestu anastomoze i histološke analize dela zida kolona sa anastomozom uz pomoć svetlosnog i elektronskog mikroskopa.

Korišćeni fibrinski lepak sastoji se iz dve komponente. Komponenta 1 fibrinskog lepka pripremana je iz plazme dalavaca krvi postupkom krioprecipitacije korišćenjem: četvo-

rodelne plastične kese sa antikoagulantno-konzervirajućim ratvorom CPD/SAGM (MacoPharma, France), centrifuge sa hlađenjem (Heraus, Cryofuga 8500i) i zamrzivača (Blast shock freezer, Angelantoni, Italy). Komponenta 2 fibrinskog lepka sastoji se od trombina-Trombina 400 (Bio Med Lublin Poland) u liofilizovanom obliku (400 IU/ml), koji se rekonstituiše pomoću 2 ml 154 mmol/l rastvora natrijum hlorida i 0,5 ml 40 mmol/l kalcijum hlorida.

Sve životinje operisane su u opštoj anesteziji je uz premedikaciju atropinom i diazepamom. Opšta anestezija izvedena je davanjem ketamina, u dozi od 8 mg/100 g telesne mase, intraperitonealno. Sve operacije izvedene su na životinjama bez preoperativne pripreme kolona. Anestezirane životinje postavljene su u ležeći položaj na leđa i trbušna duplja otvarana je gornjom i donjom medijalnom incizijom u dužini od oko 4 cm. Nakon eksploracije trbušne duplje na levoj polovini kolona, 3–4 cm iznad peritonealne refleksije izvedena je parcijalna resekcija, uz prethodno podvezivanje paraintestinalne arkade sa odstranjivanjem kolona u dužini 1,5–2 cm. Nakon odstranjivanja segmenta kolona, kontinuitet creva ponovo je uspostavljen izvođenjem terminoterminalne anastomoze. Od 100 operisanih životinja, 90 je ostalo u životu. Eksperimentne životinje bile su podeljene u tri grupe. Kontrolnu grupu, u daljem tekstu grupu 1, činile su životinje kod kojih je nakon izvedene parcijalne resekcije leve polovine kolona izvedena terminoterminalna (T-T) anastomoza jednoslojnim produžnim invertrirajućim šavom. Životinje kod kojih je primenjen fibrinski lepak na mestu anastomoze činile su grupe 2, a životinje sa primenom fibrinskog lepka i antibiotika (klindamicin i ceftriakson) grupu 3.

Po šest životinja iz sve tri grupe žrtvano je 5, 7. i 13. dana posle hirurškog zahvata. Pregled organa trbušne duplje i izvedene anastomoze vršen je pomoću incizije u obliku obrnutog slova „U“, koja omogućuje podizanje prednjeg trbušnog zida. Određivanje koncentracije kolagena vršeno je indirektno praćenjem koncentracije L-hidroksiprolina u zidu kolona na mestu anastomoze 5, 7. i 13. postoperativnog dana, posle kisele hidrolize tkiva. Koncentracije L-hidroksiprolina određivane su sa standardne krive. Rezultat je izražavan u miligramima L-hidroksiprolina na gram tkiva, a zatim preračunavan u miligrame kolagena na gram tkiva, množenjem sa faktorom 7,46<sup>18</sup>.

Za histomorfološku obradu tkiva iz područja anastomoze uziman je tkivni uzorak, koji je obrađivan za svetlosnu mikroskopiju i skening elektronsku mikroskopiju. Za svetlosnu mikroskopiju tkivni blokovi ukalupljeni u paraplant sečeni su (3–6 μm) i bojeni klasičnom hematoxilin-eozin (H&E) i PAS metodom, kao specijalnim metodama za bojenje fibrina (modifikovana metoda Wegert), elastičnih vlakana (Weiger rezorcin-fuksin) i kolagena (trihromno bojenje Masson). Za skening elektronsku mikroskopiju, nakon izvršene fiksacije, tkivo je dehidrirano u rastućim koncentracijama etanola, a zatim rastućim koncentracijama acetona u etanolu (od 30, 50, 75, 95 i 100%), i sušeno metodom kritične tačke. Nakon sušenja uzorci su presvučeni slojem zlata u jonskom raspršivaču i analizovani na skening elektronskom mikroskopu „JEOL“ JSM-5300.

## Rezultati

Najveća incidencija obolevanja ustanovljena je kod životinja u grupi 1 (devet životinja ili 30%), za razliku od grupe 2 (četiri životinje ili 13,33%) i grupe 3 (jedna životinja ili 3,33%). Ustanovljena je statistički značajno veća učestalost obolevanja u grupi 1 u odnosu na grupu 3 ( $\chi^2 = 5,88$ ;  $p < 0,05$ ).

Od 90 eksperimentalnih životinja u postoperativnom periodu uginulo je osam ili 11,1%. Najveći mortalitet ustanovljen je u grupi 1 u kojoj je uginulo šest životinja (20%), zatim u grupi 2 sa dve uginule životinje, dok u grupi 3 nije uginula nijedna životinja. Iz tabele kontigencije  $2 \times 3$ , na osnovu Pearsonovog  $\chi^2$  testa utvrđena je statistički značajna razlika mortaliteta između grupa 1 i 3 ( $\chi^2 = 7,68$ ;  $p < 0,05$ ).

Određivanje hidroksiprolina vršeno je na mestu anastomoze.

Srednje vrednosti hidroksiprolina, ustanovljene 7. i 13. postoperativnog dana na mestu anastomoze, najviše su bile u grupi 3, a najniže u grupi 1, sa utvrđenim statistički značajnim razlikama između svih grupa na nivou  $p < 0,001$  (tabela 1).

**Tabela 1**  
**Srednje vrednosti hidroksiprolina (mg/g tkiva) po grupama i postoperativnim danima**

Dani	Grupa 1 ( $\bar{x} \pm SD$ )	Grupa 2 ( $\bar{x} \pm SD$ )	Grupa 3 ( $\bar{x} \pm SD$ )
5.	18,02±0,70	28,18±1,76	32,78±1,71
7.	18,38±0,60	23,91±1,10	26,50±1,32
13.	19,24±0,96	25,12±1,65	29,46±1,96

Grupa 1 – kontrolna grupa (bez tretmana); grupa 2 – tretman fibrinskim lepkom; grupa 3 – tretman fibrinskim lepkom sa antibioticima

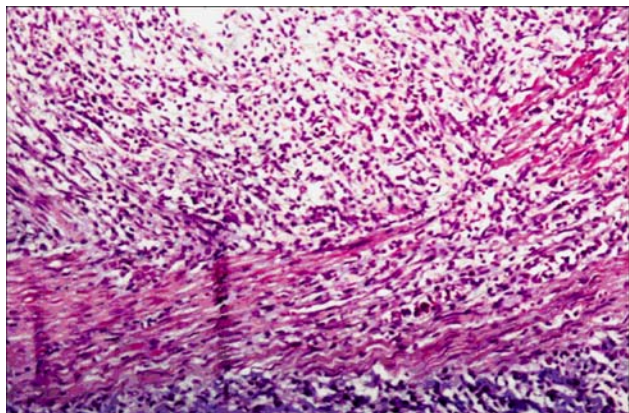
Vrednosti hidroksiprolina na mestu anastomoze kod sve tri grupe rastu u korelaciji sa protokom postoperativnog vremena, s tim što treba zapaziti dve razlike: porast je različit od grupe do grupe i porast pokazuje varijabilnost prema postoperativnim danima, odnosno nema potpuni sukcesivni rast. Najveće vrednosti hidroksiprolina na mestu anastomoze, i to u svim postoperativnim danima, utvrđeni su u grupi 3.

Histološka analiza urađena je na parafinskim tkivnim isečcima koji su bojeni HE i PAS metodom, na kolagen, fibrin i elastin. Analize su rađene periodično 5, 7. i 13. postoperativnog dana. Petog postoperativnog dana u grupi 1 moglo se zapaziti prisustvo velikog broja polimorfonuklearnih leukocita, uz, ponegde, prisutne početne znake formiranja granulacionog tkiva (slika 1).

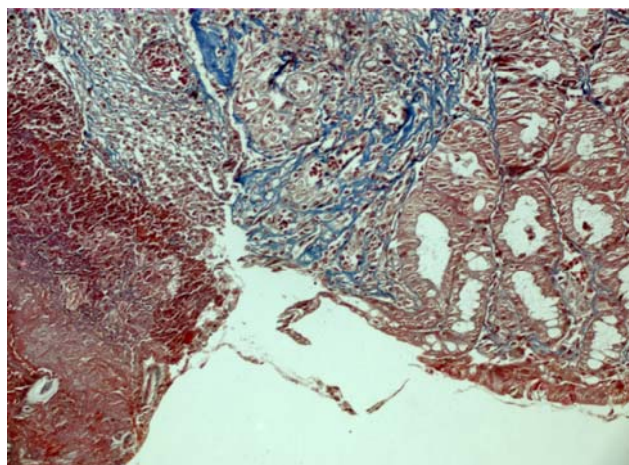
U grupi 3 5. postoperativnog dana primećeno je daleko manje neutrofilnih leukocita u odnosu na grupu 1, a broj mladih krvnih sudova koji su se formirali u toku nastanka granulacionog tkiva bio je znatno veći. Na jednom delu preparata vidi se sluzokoža i uz nju presek kroz anastomozu sačinjenu pretežno od mladog granulacionog tkiva sa dosta mladih krvnih sudova. Na drugoj strani slike uočeno je prisustvo hemoragije sa dosta fibrina i eritrocita (slika 2).

Trinaestog postoperativnog dana kod životinja u grupi 1 ustanovljeno je prisustvo granulacionog tkiva sa dosta polimorfonuklearnih leukocita i jako izraženom, još uvek prisut-

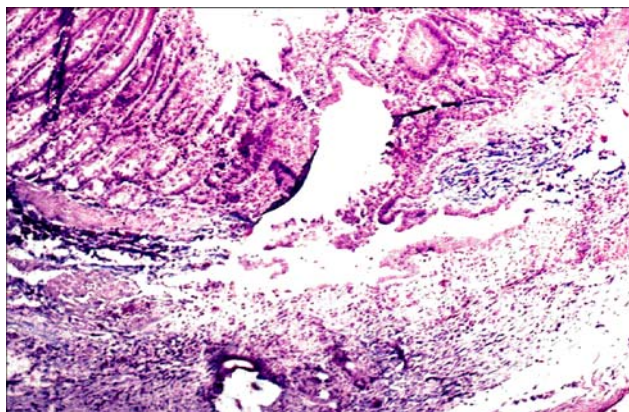
nom granulocitnom infiltracijom, mada se u ovom stadijumu moglo uočiti prisustvo limfocita pojedinačnih ili u grupicama i drugih mononuklearnih ćelija. U mukozi, naročito uz mesto anastomoze, ustanovljeni su prošireni intersticijski prostori i izražena ćelijska infiltracija (slika 3).



Sl. 1 – Histološki nalaz anastomoze kolona kod pacova kontrolne grupe (grupa 1) petog postoperativnog dana (H&E;  $\times 200$ )

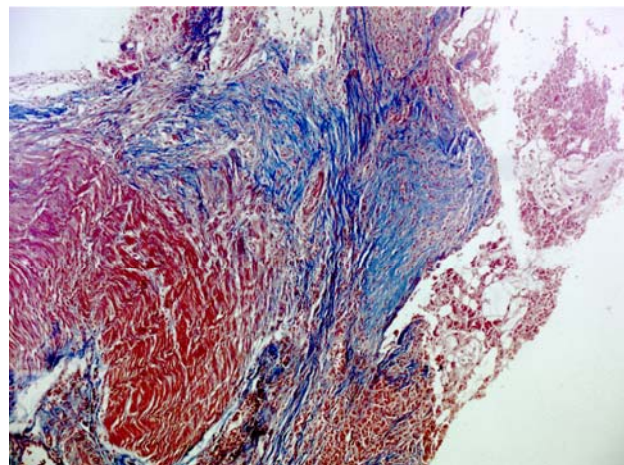


Sl. 2 – Histološki nalaz anastomoze kolona kod pacova grupe 3 (tretman fibrinskim lepkom sa antibioticima) petog postoperativnog dana (Masson trihromno bojenje;  $\times 200$ )



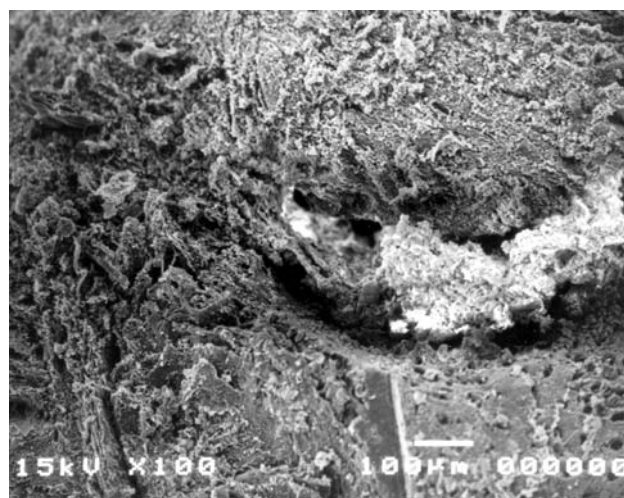
Sl. 3 – Histološki nalaz anastomoze kolona kod pacova kontrolne grupe (grupa 1) 13. postoperativnog dana (H&E;  $\times 200$ )

U grupi 3, trinaestog postoperativnog dana, na preseku kroz anastomozu uočavana je, pored vezivnog i glatkomišićnog tkiva, veća količina kolagena obojena plavo. Na ivici preparata bila je prisutna sluzokoža creva sa brojnim mladim krvnim sudovima (slika 4).



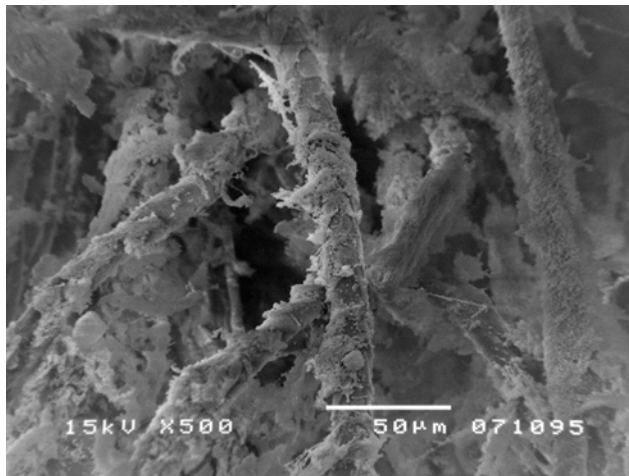
Sl. 4 – Histološki nalaz anastomoze kolona kod pacova grupe 3 (tretman fibrinskim lepkom sa antibioticima) 13. postoperativnog dana (Masson trihromno bojenje;  $\times 200$ )

Elektronsko-mikroskopska analiza urađena je metodom skening elektronske mikroskopije u sve tri ispitivane grupe 5. i 7. dana nakon operacije, na mestu anastomoze. U grupi 1 moglo se zapaziti da je još uvek postojao, na mestu anastomoze, defekt ispunjen detritusom koji je najverovatnije bio sastavljen od endogenog fibrina u kome se nalazi izvestan broj ćelija, a same ivice anastomoze na jednom i drugom kraju bile su sačinjene od pretežno polimorfonuklearnog ćelijskog infiltrata. Od značaja je spomenuti odsustvo veće količine vlakana (fibrinskih, elastičnih, kolagenih) (slika 5).



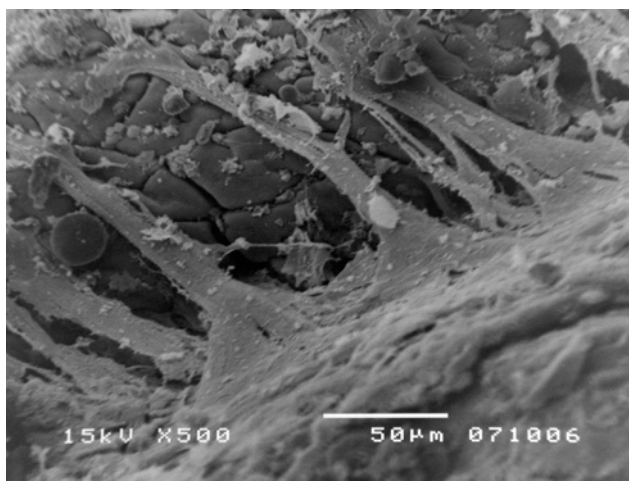
Sl. 5 – Histološki nalaz anastomoze kolona kod pacova kontrolne grupe (grupa 1) petog postoperativnog dana (skening elektronska mikroskopija)

U ovoj grupi životinja kod kojih je na mestu anastomoze kolona upotrebljen fibrinski lepak i antibiotik 5. postoperativnog dana zapaženi su snopovi kolagenih vlakana i između njih polimorfonuklearne ćelije (slika 6).



**Sl. 6 – Histološki nalaz anastomoze kolona kod pacova grupe 3 (tretman fibrinskim lepkom sa antibioticima) petog postoperativnog dana (skening elektronska mikroskopija)**

U ovoj grupi 7. postoperativnog dana zapažena su kolagena vlakna koja su pravila most između okrajaka anastomoziranih delova creva, tako da je anastomoza bila prekrivena gustim snopovima kolagenih vlakna koja su formirala ploče (slika 7).



**Sl. 7 – Histološki nalaz anastomoze kolona kod pacova grupe 3 (tretman fibrinskim lepkom sa antibioticima) sedmog postoperativnog dana (skening elektronska mikroskopija)**

### Diskusija

Fibrinski lepak, terapijski agens čije se dejstvo bazira na biološkim i fiziološkim principima, veoma brzo našao je široku primenu u svim granama hirurgije. Nakon aplikacije, najpre usled kataliznog delovanja trombina, dolazi do konverzije fibrinogena u solubilne fibrinske monomere. Stvoreni monomeri se pretvaraju pod dejstvom faktora XIII koagulacije i kalcijumovih jona u mrežu nesolubilnih fibrinskih po-

limera. S tim u vezi prvo nastupa redukcija električnih naboja, a potom stvaranje stabilnih unakrsnih veza između molekula fibrina, sa sledstvenim ispoljavanjem adhezivnog učinka fibrina na površini na koju je aplikovan. Fibronektin pospešuje polimerizaciju fibrina, ali i migraciju ćelija, akciju fibroblasta i reepitelizaciju<sup>12</sup>.

Problem bezbednog izvođenja anastomoza na kolonu još uvek je aktuelan. Najznačajnija i najčešća komplikacija kod izvođenja hirurških intervencija je dehiscencija anastomoze.

Kod svih operisanih eksperimentalnih životinja analizirani su sledeći parametri: postoperativne komplikacije, mortalitet, količina kolagena u zidu kolona (hidroksiprolina) i histomorfološka analiza zida kolona na mestu anastomoze. Analiza dobijenih podataka u odnosu na postoperativne komplikacije ispitivanih grupa životinja, pokazala je da su one najveće u grupi 1 (kontrolna grupa) sa učestalošću od 30% (9 od 30 eksperimentalnih životinja). U grupi 2 (grupa u kojoj je primenjen sam lepak) postoperativne komplikacije imalo je 13,33% (4 od 30 eksperimentalnih životinja). U grupi 3 kod koje je primenjen fibrinski lepak u kombinaciji sa antibiotikom ustanovljena je najmanja incidencija postoperativnih komplikacija (3,33% ili 1 od 30 eksperimentalnih životinja). Incidencija postoperativnih komplikacija pokazuje značajnu razliku između grupe 1 i grupe 3 za nivo  $p < 0,05$ .

U radu iz 1994. godine Fini i sar.<sup>19</sup> objavili su rezultate uporedne analize primene fibrinskog lepka i butil-2-cijanoakrilatnog lepka u zaštiti eksperimentalnih intestinalnih anastomoza na zečevima. U grupi životinja sa fibrinskim lepkom nije bilo komplikacija, za razliku od kontrolne grupe u kojoj su se one javile kod 88%, a u grupi sa butil-2-cijanoakrilatnim lepkom kod 66% životinja. Slične rezultate izneli su Giardino i sar.<sup>20,21</sup>

Dozvoljen nivo od 13,3% u grupi 2 u našem istraživanju ubedljivo je pokazao prednosti fibrinskog lepka u odnosu na kontrolnu grupu, a još bolje rezultate pokazala je grupa sa primenom fibrinskog lepka i antibiotika.

Analizom rezultata uzroka postoperativnih komplikacija u našem radu uočena je dominacija pojave infekcije operativne rane u sve tri grupe. U grupi 1, od devet obolelih životinja, u četiri slučaja javila se infekcija rane. U grupi 2, od četiri obolele životinje, dve su imale navedenu komplikaciju. U grupi 3, eksperimentne životinje nisu imale infekciju operativne rane. Rezultati analize uzroka postoperativnih komplikacija pokazali su da su najčešće komplikacije bile: intraabdominalne priraslice i parcijalne dehiscencije anastomoza. Najveća zastupljenost intraabdominalnih priraslica (10%) bila je u grupi 1 (skoro tri puta veća od učestalosti u ostale dve grupe). Parcijalna dehiscencija anastomoze (perianastomotski apsces) bila je zastupljena u grupi 1 i u grupi 2 sa po jednim slučajem, a kod grupe 3 nije bilo dehiscencije anastomoze.

Van der Ham i sar.<sup>22</sup> saopštili su rezultate eksperimentalne studije u kojoj su se postoperativne adhezije javile u kontrolnoj grupi kod 33%, u grupi sa heterolognim fibrinskim lepkom kod 23% i u grupi sa fibrinskim lepkom i antibiotikom kod 27% operisanih životinja. Brands i sar.<sup>23,24</sup> objavili su rezultate primene fibrinskog lepka, kao oblika plikacije

tankih creva bez šava u stanjima recidivnih intestinalnih okluzija kod dece do sedam godina. Nisu uočili postojanje postoperativnih komplikacija. Slične rezultate iznose i drugi autori<sup>25</sup>.

S obzirom na približno jednaku učestalost (kod 1/5 operisanih životinja) pojava postoperativnih adhezija u našem istraživanju, kao i u istraživanju van der Hama i sar.<sup>22</sup>, treba očekivati manju incidenciju ove komplikacije kod primene fibrinskog lepka za razliku od slučajeva kada se on ne primenjuje. Određivanje kolagena u zidu kolona vršeno je preko određivanja količine hidroksiprolina u mg/g 10% homogenata tkiva creva. Na osnovu ove jedinstvene distribucije hidroksiprolina moguće ga je koristiti kao dobar marker za proučavanje metabolizma kolagena. Analizom rezultata naše studije utvrđeno je da vrednost hidroksiprolina na mestu anastomoze kod sve tri grupe raste sa protokom vremena, s tim što treba zapaziti dve razlike: porast je različit od grupe do grupe i porast nema potpuno izraženi sukcesivni trend. Najveće količine hidroksiprolina na mestu anastomoze u svim postoperativnim danima registrovane su u grupi u kojoj je primenjen fibrinski lepak i antibiotik. Vrednosti hidroksiprolina u grupi 1 i 2 imaju, ne samo značajno manje vrednosti od one u grupi 3, već i potpuno različiti tok rasta.

Jiborn i sar.<sup>26</sup> eksperimentalno su dokazali da se koncentracija kolagena u zidu kolona na mestu anastomoze smanjuje nakon izvedene resekcije leve polovine. U pomenutom istraživanju vrednosti hidroksiprolina na mestu anastomoze 4. postoperativnog dana bile su 49,7 µg/mg, što je za oko 50% manje od vrednosti neoperisanog kolona (93,8 µg/mg), a 7. postoperativnog dana hidroksiprolin dostiže vrednosti od 73,1 µg/mg. Ispitivanja Cohena i sar.<sup>27</sup> i Hawley i sar.<sup>28</sup> pokazala su da se smanjivanje koncentracije kolagena odvija ne samo na anastomozi već i u okolnim segmentima, naročito na proksimalnom delu. Ove promene su izazvane migracijom građivnih elemenata (kolagen i drugi sastojci ekstracelularnog matriksa) ka mestu manjeg otpora – anastomoza, čime se remeti ravnomerna distribucija kolagena intaktnog kolona. U prilog ovome govore i istraživanja pojedinih autora o povećanoj aktivnosti kolagenaze u čitavom debelom crevu nakon izvedenih resekcija kolona.

Podaci iz literature o primeni fibrinskog lepka u zaštiti anastomoza na kolonu dosta su kontradiktorni. Van der Ham i sar.<sup>22</sup> saopštili su rezultate istraživanja u kojima su izneli odnos koncentracije kolagena po pojedinim segmentima izolovanog kolona pacova uz primenu fibrinskog lepka. U tzv. „kritičnom periodu“ zarastanja anastomoze (do 5. dana) najniže koncentracije pokazuje samo mesto anastomoze. Od 5. do 7. dana dolazi do statistički značajnog skoka vrednosti hidroksiprolina na mestu anastomoze u kontrolnoj grupi. Takođe, primenom fibrinskog lepka i fibrinskog lepka i antibiotika ranije se postiže potrebna jačina anastomoze (7. postoperativnog dana) u odnosu na kontrolnu grupu<sup>29</sup>.

Imajući u vidu naše rezultate istraživanja i podatke iz literature može se tvrditi da se primenom fibrinskog lepka ostvaruje znatno veća koncentracija kolagena na mestu anastomoze, što omogućava njeno bolje i sigurnije zarastanje. Adhezivni efekat omogućuje mehanički kontakt okrajaka

creva, a biološki obezbeđuje bolju produkciju endogeno stvorenog kolagena, što dokazuje i histološko ispitivanje. U našem istraživanju već 5. postoperativnog dana u grupama 2 i 3, na mestu anastomoze koncentracija kolagena prevazilazi koncentraciju neoperisanog kolona i značajno je veća od koncentracije kolagena u grupi 1.

Analize autora koji su se bavili histomorfološkim ispitivanjima procesa zarastanja anastomoza, ističu da nakon početnih faza u procesu zarastanja (koagulacija i inflamacija), koje traju 24–48 h nakon završetka izvedene anastomoze, nastupa ćelijskoproliferativna faza (fibroplazija) sa maksimalnim intenzitetom između 5. i 7. dana. U toj fazi sinteza kolagena dostiže vrhunac, a zatim progresivno opada. Osnovni faktori koji regulišu dužinu trajanja i prelazak jedne faze u drugu su citokini ili ćelijski hormoni. Poznat je njihov uticaj na prelazak ćelije u fazu G1 ili fazu ćelijskog rasta, zatim oni takođe stimulišu migraciju ćelija na mesto zarastanja i utiču na stvaranje specifičnih komponenti potrebnih za obnovu ekstracelularnog matriksa<sup>27</sup>. Fini i sar.<sup>19</sup> histološki su analizirali proces zarastanja eksperimentalnih anastomoza uz aplikaciju sintetskog i biološkog lepka (fibrinski lepak). Utvrdili su da primena fibrinskog lepka omogućuje brži i bolji način zarastanja intestinalnih anastomoza. Ne postoji reakcija organizma na prisustvo stranog tela.

Analizom naših rezultata i rezultata pomenutih autora uočava se da primena fibrinskog lepka i fibrinskog lepka sa antibiotikom deluje stimulatивно na proliferativni odgovor obezbeđujući uslove za izmenu kvaliteta ćelijske infiltracije u smislu pojave veće količine mononuklearnih ćelija. Mononuklearna ćelijska infiltracija, takođe, predstavlja preduslov za povećanu sekreciju kolagena i, premda se radi o mladom kolagenu, to ipak obezbeđuje povoljne uslove za povećanu otpornost na sile mehaničkog pritiska i istezanja. Ranije uspostavljena faza fibroplazije u grupi sa fibrinskim lepkom i fibrinskim lepkom sa antibiotikom ukazuje na mogućnost da egzogeno aplikovan fibrin stimuliše funkciju pojedinih faktora rasta (PDGF, TGF-β, MDGF) u njihovoj regulaciji procesa zarastanja. Postoje radovi koji pokazuju da kombinovana primena endogenih faktora rasta (EGF) i fibrinskog lepka ima uticaj na proces zarastanja anastomoze kolona<sup>30</sup>.

### Zaključak

Osnovne karakteristike primene fibrinskog lepka sa antibioticima su: jednostavno i lako izvođenje, široka primenljivost, reproducibilnost i ekonomičnost, dok je rizik od virusnih infekcija jednak riziku aplikacije jedne jedinice krvi/plazme. Posebna pogodnost primene ove metode je u korišćenju zatvorenog sistema kesa za razliku od ostalih precipitacijskih tehnika i u relativno kratkom trajanju procesa pripremanja fibrinskog lepka. Primenom fibrinskog lepka sa antibioticima, kod izvođenja anastomoza na kolonu, mogu se postići bolji rezultati tj. manji broj dehiscencija, dobra mehanička zaštita, kao i kraće vreme zarastanja anastomoze zbog izraženih bioloških dejstva fibrinogena tokom procesa zarastanja rane i dejstva antibiotika.

## L I T E R A T U R A

1. *Blajchman MA*. Definition of transfusion medicine. *Transfus Med Rev* 2002; 16: 85.
2. *Contreras M*. Preface. *Balliers Clinical Haematology* 2000; 13: VII.
3. *Newman B*. Blood donor suitability and allogeneic whole blood donation. *Transfus Med Rev* 2001; 15(3): 234–44.
4. *Seifried E, Roth WK*. Optimal blood donation screening annotation. *Br J Haematol* 2000; 109(4): 694–8.
5. *Gorlin JB*. Standards for blood banks and Transfusion Services 21st ed. Bethesda: AABB; 2002.
6. *Balint B*. Principles of transfuziologija. Beograd: Zavod za udžbenike i nastavna sredstva; 2004. (Serbian)
7. *Stanojković Z, Balint B*. [Transfusion in hematologic patients]. *Bilten za hematologiju* 2004; 32(3): 97–101. (Serbian)
8. *Beek H, Becker T, Kiesig ST, Kaeser R, Wolter K, Hellstern P*. The influence of citrate concentration on the quality of plasma obtained by automated plasmapheresis: a prospective study. *Transfusion* 1999; 39(11–12): 1266–70.
9. *Evatt BL, Austin H, Leon G, Ruiz-Sáez A, De Bosch N*. Haemophilia therapy: assessing the cumulative risk of HIV exposure by cryoprecipitate. *Haemophilia* 1999; 5(5): 295–300.
10. *Kakkar N, Kaur R, Dhanoa J*. Improvement in fresh frozen plasma transfusion practice: results of an outcome audit. *Transfus Med* 2004; 14(3): 231–5.
11. *Lamb C*. Further enhancement of the safety of human plasma derivatives. *Transfusion* 2002; 42(8): 973–4.
12. *Erber WN*. Massive blood transfusion in the elective surgical setting. *Transfus Apher Sci* 2002; 27(1): 83–92.
13. *Siedentop KH, Harris DM, Sanchez B*. Autologous fibrin tissue adhesive. *Laryngoscope* 1985; 95(9 Pt 1): 1074–6.
14. *Gibble JW, Ness PM*. Fibrin glue: the perfect operative sealant? *Transfusion* 1990; 30(8): 741–7.
15. *Stanojković Z, Balint B, Ignjatović D, Ostojić G*. [Fibrin glue – an efficient local hemostatic and adhesive, sealing agent]. *Anestezija, Reanimacija, Transfuzija* 2004; 32: (1–2): 69–74. (Serbian)
16. *Balint B, Černak I, Petakov M, Bugarski D, Malićević Ž, Mandić-Radić S, et al*. The use of single-donor fibrin glue prepared by recycled cryoprecipitation in experimental liver surgery. *Haematologia (Budap)* 2002; 32(2): 135–45.
17. *DePalma L, Criss VR, Luban NL*. The preparation of fibrinogen concentrate for use as fibrin glue by four different methods. *Transfusion* 1993; 33(9): 717–20.
18. *Woessner JF Jr*. The determination of hydroxyproline in tissue and protein samples containing small proportions of this imino acid. *Arch Biochem Biophys* 1961; 93: 440–7.
19. *Fini M, Giardino R, Giavaresi G, Rocca M, Aldini N*. Tissue adhesives in experimental intestinal anastomoses. Fibrin sealing in surgical and nonsurgical fields. *General and abdominal surgery, pediatric surgery* 1994; 2: 136–42.
20. *Giardino R, Brulatti M, Franchini A*. Colonic anastomoses protected with fibrin sealant. In: *Schlag G, Redl H*, editors. *General surgery and abdominal surgery*. Berlin: Springer; 1986. p. 155–8.
21. *Giardino R*. Influenza dei materiali da sutura sulla vitalità cellulare studio comparativo sperimentale. *G Chir* 1990; 3: 147–8. (Italian)
22. *van der Ham AC, Kort WJ, Weijma IM, van den Ingh HF, Jeekel H*. Effect of antibiotics in fibrin sealant on healing colonic anastomoses in the rat. *Br J Surg* 1992; 79(6): 525–8.
23. *Brands W, Diehm T, Lochbühler H, König M, Stock M*. Use of fibrin glue in prevention and therapy of intra-abdominal adhesions. *Chirurg* 1990; 61(1): 22–6. (German)
24. *Brands W, Wirth H, Schneider-Brown H*. The etiopathogenesis of intraabdominal adhesion and their prophylaxis with highly concentrated human fibrinogen. Fibrin sealing in surgical and nonsurgical fields. *General and abdominal surgery, pediatric surgery* 1994; 2: 204–10.
25. *Chmielewski GW, Saxe JM, Dulchavsky SA, Diebel LN, Bailey JK*. Fibrin gel limits intra-abdominal adhesion formation. *Am Surg* 1992; 58(9): 590–2.
26. *Jiborn H, Abonen J, Zederfeldt B*. Healing of experimental colonic anastomoses. III. Collagen metabolism in the colon after left colon resection. *Am J Surg* 1980; 139(3): 398–405.
27. *Cohen K, Diegelmann RF, Crossland MC*. Wound care and wound healing. In: *Schwartz S, Shires T, Spencer F*, editors. *Principles of surgery*. New York: Mc-Graw-Hill; 1994. p. 279–303.
28. *Hanley PR, Faulk WP*. A circulatory collagenase inhibitor. *Br J Surg* 1970; 57(12): 900–4.
29. *Houston KA, Rotstein OD*. Fibrin sealant in high-risk colonic anastomoses. *Arch Surg* 1988; 123(2): 230–4.
30. *Stanojević G, Savić V, Đorđević L, Stanojković Z, Stojanović M, Janjić D*. The effects of topical fibrin glue and epidermal growth factor (EGF) on the colon anastomosis healing process—a comparative experimental study. *Facta Universitates* 2004; 11(3): 113–7.

Rad je primljen 26. V 2008.



## Plućne manifestacije kod sistemskih bolesti vezivnog tkiva

### Lung involvement in systemic connective tissue diseases

Goran Plavec\*, Ilija Tomić\*, Sanela Bihorac\*, Gordana Kovačević\*,  
Ljiljana Pavlica†, Gordana Cvetković\*, Stevan Sikimić\*, Rade Milić\*

Vojnomedicinska akademija, \*Klinika za plućne bolesti,

†Klinika za reumatologiju, Beograd

#### Apstrakt

**Uvod/Cilj.** Sistemske bolesti vezivnog tkiva (SBVT) predstavljaju grupu hroničnih inflamatornih, autoimunskih oboljenja nepoznatog uzroka koje mogu zahvatiti različite organske sisteme. Njihov tok i prognoza su različiti. Sve one mogu, u manjoj ili većoj meri, zahvatiti i respiratorni sistem. Cilj ovog rada bio je da se kod bolesnika koji se primarno leče zbog SBVT utvrdi učestalost respiratornih simptoma, poremećaja plućne funkcije, radiografskih promena na standardnoj radiografiji i kompjuterizovanoj tomografiji visoke rezolucije (HRCT) i proceni njihova povezanost sa dužinom trajanja bolesti i primenjenog lečenja. **Metode.** Kod 47 nerandomizovanih bolesnika hospitalizovanih u Klinici za reumatologiju, urađeni su standardna radiografija grudnog koša, HRCT i plućna funkcijska dijagnostika. **Rezultati.** Hipoksemija je bila prisutna kod devet bolesnika sa respiratornim simptomima (20%). Kod pet od ovih bolesnika utvrđeni su znaci plućne fibroze na HRCT. Kod njih je nalaz na standardnoj radiografiji pluća bio uredan. Polovina bolesnika sa SBVT imala je kliničke znake zahvaćenosti pluća. Poremećaj u testovima plućne funkcije različitog stepena izmeren je kod 40% bolesnika. Pojava i težina poremećaja plućne funkcije nije bila u korelaciji sa dužinom evolucije SBVT, niti sa primenjenom terapijom ( $p > 0,05$  Spearman's Ro). **Zaključak.** Plućna fibroza nastaje kod oko 10% bolesnika sa SBVT i najverovatnije nije u vezi sa primenjenim režimima lečenja. Pojava hipoksemije mogla bi ukazati na prisustvo plućne fibroze u odsustvu promena na standardnoj radiografiji pluća.

#### Ključne reči:

vezivno tkivo; sistemske bolesti; respiratorna funkcija, testovi; radiografija; tomografija, kompjuterizovana, rendgenska.

#### Abstract

**Background/Aim.** Systemic connective tissue diseases (SCTD) are chronic inflammatory autoimmune disorders of unknown cause that can involve different organs and systems. Their course and prognosis are different. All of them can, more or less, involve the respiratory system. The aim of this study was to find out the frequency of respiratory symptoms, lung function disorders, radiography and high-resolution computerized tomography (HRCT) abnormalities, and their correlation with the duration of the disease and the applied treatment. **Methods.** In 47 non-randomised consecutive patients standard chest radiography, HRCT, and lung function tests were done. **Results.** Hypoxemia was present in nine of the patients with respiratory symptoms (20%). In all of them chest radiography was normal. In five of these patients lung fibrosis was established using HRCT. Half of all the patients with SCTD had symptoms of lung involvement. Lung function tests disorders of various degrees were found in 40% of the patients. The outcome and the degree of lung function disorders were neither in correlation with the duration of SCTD nor with therapy used ( $p > 0.05$  Spearman's Ro). **Conclusion.** Pulmonary fibrosis occurs in about 10% of the patients with SCTD, and possibly not due to the applied treatment regimens. Hypoxemia could be a sign of existing pulmonary fibrosis in the absence of disorders on standard chest radiography.

#### Key words:

connective tissue; immune system diseases; respiratory function tests; radiography; tomography scanners, x-ray computed.

#### Uvod

U sistemske bolesti vezivnog tkiva ubrajaju se: reumatoidni artritis (RA), sistemski eritemski lupus (SLE), sistemska skleroza (SS), Sjögrenov sindrom, dermatopolimiozitis (DMPM), mešovita sistemska bolest vezivnog tkiva (MSBVT)

i vaskulitisni sindromi. Sve one su stvarni izazov za lekare i naučnike jer predstavljaju grupu relativno retkih autoimunskih zapaljenskih oboljenja još uvek nepoznatog uzroka, koje mogu zahvatiti različite organe i organske sisteme, sa različitim tokom i prognozom. Mogu zahvatiti respiratorni sistem sa manifestacijama kao što su serozitis, intersticijska plućna

bolest (IPB), mišićna slabost, plućna vaskularna bolest i infekcije. Incidencija intersticijske plućne bolesti varira u zavisnosti od oblika sistemskih bolesti vezivnog tkiva (SBVT). U sistemskoj sklerozi može se videti kod većine bolesnika, dok se u toku sistemskog eritemskog lupusa nalazi kod malog broja obolelih<sup>1,2</sup>. Štaviše, kod nekih SBVT, IPB može biti prva manifestacija bolesti. Posebno kod bolesnika sa polimiozitisom, dermatomiozitisom i reumatoidnim artritisom intersticijska plućna bolest može da prethodi drugim manifestacijama i po nekoliko godina<sup>3-5</sup>. Kao prva manifestacija bolesti u sistemskoj sklerozi, s druge strane, IPB je veoma retka i, kako je ranije saopšteno, u vezi je sa prisustvom antitela protiv topoizomerase I (anti-SCI-70 antitela)<sup>6,7</sup>. U većini slučajeva sistemske skleroze, zahvatanje pluća vidi se u kasnim fazama bolesti<sup>1,8</sup>.

Cilj ovoga rada bio je da se utvrdi učestalost respiratornih simptoma, poremećaja plućne funkcije, radiografskih promena na standardnoj radiografiji i kompjuterizovanoj radiografiji visoke rezolucije (HRCT) kod bolesnika koji se primarno leče zbog SBVT i proceni njihova povezanost sa dužinom trajanja bolesti i primenjenog lečenja.

### Metode

Ispitivanjem je bilo obuhvaćeno 47 nerandomizovanih bolesnika hospitalizovanih u Klinici za reumatologiju Vojnomedicinske akademije, koji su bili primljeni zbog lečenja postojeće sistemske bolesti vezivnog tkiva. Žena je bilo 31 (64%) i muškaraca 16 (36%), prosečne starosti od 58,90 i 49,88 godina, respektivno.

Kod svakog bolesnika pored uobičajenih reumatoloških ispitivanja urađeni su i standardna radiografija grudnog koša i ispitivanje plućne funkcije. Spirometrija je rađena metodom jednog izdaha na aparatu Master Screen firme Jegger. Totalni plućni kapacitet na ugljen dioksid (DLCO) i koeficijent transporta (KCO) rađen je metodom jednog izdaha u stojećem stavu na aparatu Master Lab Pro firme Jegger. Merenje parcijalnih pritisaka kiseonika ( $pO_2$ ), ugljen-dioksida ( $pCO_2$ ) i zasićenje hemoglobina arterijske krvi kiseonikom ( $SaO_2$ ) u miru rađeno je na aparatu ABL Lab Pro firme Radiometer. Procena stepena težine poremećaja plućne funkcije vršena je na osnovu smernica Evropskog respiratornog društva (ERS)<sup>9</sup>. Kao laki poremećaj mehanike disanja smatrane su ostvarene vrednosti ispod 80%, umereni od 65 do 80% i teži ispod 65% od predviđenih. Smanjenje  $pO_2$  u arterijskoj krvi klasifikovano je po težini prema polu i godinama starosti. Poremećaj difuzije smatran je kao lak kada je bio između 50 i 70% od predviđene vrednosti, a težak kada je bio 50% i manji<sup>10</sup>. Kompjuterizovana tomografija grudnoga koša tehnikom visoke rezolucije (HRCT) urađena je kod osam bolesnika.

Statistička obrada podataka izvršena je u statističkom programskom paketu SPSS 11,5.

### Rezultati

U ispitanoj grupi bolesnika SBVT bila je zastupljena u skoro dvostruko većem broju kod žena nego u muškaraca, i

to kod žena češće u šestoj, a kod muškaraca u petoj deceniji života (tabela 1). Dijagnoze SBVT kod ispitivanih bolesnika prikazane su u tabeli 2. Reumatoidni artritis bio je prisutan kod 22, sistemski eritemski lupus kod šest, Sjögrenov sindrom i mešovita sistemska bolest vezivnog tkiva kod pet, sistemska skleroza kod četiri, vaskulitisni sindromi kod tri i dermatopolimiozitis kod dva bolesnika. Dužina trajanja SBVT bila je od jedne do 40 godina. Kod 16 bolesnika sa RA (73%) evoluciju bolesti bila je duža od 20 godina.

**Tabela 1**  
Životno doba i pol ispitanih bolesnika sa sistemskim bolestima vezivnog tkiva (SBVT)

Godine života	Muškarci	Žene	Ukupno
< 20	1		1
21–30	1	2	3
31–40	2	2	4
41–50	3	6	9
51–60	4	5	9
61–70	2	9	11
> 70	3	7	10
<b>Ukupno</b>	<b>16</b>	<b>31</b>	<b>47</b>

**Tabela 2**  
Učestalost pojedinih sistemskih bolesti vezivnog tkiva (SBVT) u grupi ispitanih bolesnika sa SBVT

Bolest	Broj bolesnika
Reumatoidni artritis	22
Sistemski lupus eritematodes	6
Sjögrenov sindrom	5
Kombinovana sistemska bolest vezivnog tkiva	5
Sistemska skleroza	4
Vaskulitisni sindromi	3
Dermatopolimiozitis	2
<b>Ukupno</b>	<b>47</b>

Kliničke znake zahvaćenosti pluća imalo je 25 (55%) ispitanika. Respiratorne tegobe imalo je osam (50%) muškaraca i 17 (53%) žena. Jedan simptom imalo je osam (17%), a po dva i više simptoma imalo je 16 (34%) bolesnika. Dispneja u naporu bila je najčešći simptom i javilo se kod 15 bolesnika, dok je kašalj imalo 14, bol u grudima sedam i dispneju u miru pet bolesnika. Dispneju u miru i kašalj imalo je sedam, bol i kašalj šest, a dispneju u naporu sa kašljem i bolom u grudima tri bolesnika. Pojava i učestalost simptoma u grupi bolesnika sa evolucijom bolesti do pet godina iznosila je 68% (13 od 19 bolesnika), a u grupi od šest do 20 godina 28% (6 od 21 bolesnika), dok je sa dužinom trajanja oboljenja preko 20 godina iznosila 60% (6 od 10 bolesnika). Nije postojala statistički značajna povezanost između ovih posmatranih obeležja ( $p > 0,05$  Spearman's Ro).

Promene na standardnoj radiografiji koje su ukazivale na prisustvo fibroze pluća grudnog koša videne su kod osam slučajeva, a samo kod jednog potvrđena je sumnja na HRCT.



Manje vrednosti pO<sub>2</sub>, odnosno hipoksemija bila je prisutna kod devet (19%) bolesnika i kod svih je bila lakog stepena. Sedmero bolesnika iz ove grupe imalo je respiratorne simptome (78%), od kojih 74 kod petoro bolesnika utvrđeni znaci plućne fibroze na HRCT (71%). Samo hipoksemija izmerena je kod četiri, a hipoksemija i hiposaturacija kod još pet bolesnika. Samo laka hiposaturacija hemoglobina arterijske krvi izmerena je kod još dva bolesnika od kojih nijedan nije imao respiratorne tegobe. Kod svih ovih bolesnika nalaz na standardnoj radiografiji pluća bio je uredan. Kod deset bolesnika DLCO bio je smanjen. Kod petoro bolesnika bio je smanjen i koeficijent transfera. Svih devet bolesnika sa smanjenim pO<sub>2</sub> imalo je snižen DLCO.

Poremećaji u testovima plućne funkcije različitog stepena izmereni su kod 22 (47%) bolesnika (tabela 3). Pojava i težina poremećaja plućne funkcije nije bila u korelaciji sa dužinom evolucije SBVT ( $p > 0,05$ ).

onih oboljenja sa visokom prevalencijom zahvaćenosti pluća, kao što je sistemska skleroza<sup>1</sup>. Sama klinička procena nije dovoljna i dopunjuje se ispitivanjem plućne funkcije, radiološkim tehnikama, bronhoalveolnom lavažom i biopsijom. Dalje, neki serumski biomarkeri mogu imati značaj u proceni IPB. Neki od ovih dijagnostičkih modaliteta mogu imati i prognostički značaj. Među takve ubrajaju se serumski surfaktant-proteini A i D (SP-A i D) kao i visokomolekulski glikoprotein Krebs von den Lungen (KL-6) koji snažno ekspresuju pneumociti tipa II. Naime, kod bolesnika sa IPB potvrđenoj na HRCT ovi proteini u značajno većoj koncentraciji su u serumu neko kod onih sa SS bez IPB i zdravih osoba<sup>11,12</sup>.

Radiografija grudnoga koša, uopšteno gledano, moćno je dijagnostičko sredstvo u plućnoj dijagnostici. Međutim, radiografske intersticijske promene često su suptilne tako da se ovom tehnikom ne mogu videti, a mogu dati i lažnopoliti-

Tabela 3

## Vrsta i stepen težine poremećaja plućne funkcije

Vrsta poremećaja	Laki	Srednje teški	Teški	Ukupno
Restrikcija	8	2	2	12
Opstrukcija	3	2	0	5
Mešovite smetnje	2	2	1	5
Ukupno	13	6	3	22

U lečenju ispitivanih bolesnika primenjivani su kortikosteridi (KS), antimalarici (AM), preparati zlata (PAu), nesterojni antiinflamatorni lekovi (NSIAI) i citostatici (CSt). Kod 30 bolesnika davana su dva i više lekova. Od devet bolesnika koji su dobijali metotreksat (MTX) kod dva je postojala IPB na HRCT, kao i kod jednog koji je dobijao ciklofosamid. Kod preostala dva kod kojih je, takođe, potvrđena IPB jedan je dobijao KS, a jedan AM.

## Diskusija

Sistemske bolesti vezivnog tkiva predstavljaju grupu relativno retkih hroničnih inflamatornih, autoimunskih oboljenja nepoznatog uzroka koja mogu zahvatiti različite organske sisteme. Njihov tok i prognoza su različiti. Sve one mogu, u manjoj i većoj meri, zahvatiti i respiratorni sistem. Plućne manifestacije u toku SBVT su inflamatorne posledice osnovnog oboljenja i neuspeha lokalnih reparacionih procesa, a karakterišu se aktivacijom alveolnih makrofaga, proliferacijom fibroblasta i ekstracelularnog matriksa, verovatno pod uticajem nekontrolisanog stvaranja citokina.

Kod bolesnika sa SBVT moguća je zahvaćenost pluća. Promene u plućnom intersticijumu obično se procenjuju nakon pojave respiratornih simptoma. Međutim, sa povećanom spoznajom da ireverzibilne promene u plućnom parenhimu mogu nastati i pre pojave simptoma, rano otkrivanje progresivne plućne fibroze zaslužuje pažnju, posebno u svetlu različitih bioloških činilaca koji su odskora dostupni za ciljnu terapiju. Stoga se preporučuje da se kod bolesnika sa SBVT sprovode i rutinska ispitivanja, i to posebno kod

vnu sliku<sup>13</sup>. Takođe, od osam suspektnih nalaza na IPB na standardnoj radiografiji pluća, u našoj seriji samo jedan potvrđen je sa HRCT. Zbog koga se smatra da je standardna radiografija metoda od ograničenog značaja za otkrivanje zahvaćenosti plućnog parenhima u SBVT. Kompjuterizovana radiografija visoke rezolucije i, sada savremenija, multislajсна kompjuterizovana tomografija (MSCT) otkrivaju tipične promene i njihovu distribuciju i time uklanjaju konfuziju lažnopolitivnih nalaza standardne radiografije.

Testovi plućne funkcije temelj su za kliničku procenu stepena zahvaćenosti plućnog parenhima u toku SBVT. Ovi testovi, generalno, lako su dostupni, lako izvodljivi, a nisu invazivni. Parametri plućne funkcije koji pružaju najbolje informacije su totalni plućni kapacitet (TLC), vitalni kapacitet (VC), forsirani ekspirijumski volumen u prvoj sekundi (FEV1) i posebno merenje gasnog transfera za ugljenmonoksid (DLCO). Praćenje VC od samog otkrivanja SBVT je korisno, a njegovo smanjivanje ukazuje na pojavu plućnih promena kao i napredovanje osnovnog oboljenja<sup>14</sup>. Merenje gasnog transfera za ugljenmonoksid pouzdan je funkcijski marker težine morfoloških promena u intersticijskim plućnim promenama i koreliše bolje nego drugi parametri plućne funkcije sa stepenom zahvaćenosti plućnog parenhima na HRCT<sup>15</sup>. Ovo merenje pruža prognostičke informacije, tako, na primer, smanjenje ispod 54% od predviđene vrednosti predskazuje progresiju fibrozirajućeg alveolitisa na HRCT u RA<sup>16</sup>.

Promene u plućima zbog neželjenog učinka MTX opisane su kod 0,5–12% slučajeva, mada većina prospektivnih studija daje podatke o približno 3%<sup>17</sup>. Kod bolesnika sa RA koji su analizirani u ovoj studiji nije bilo pneumonitisa

u vezi sa primenom MTX. Dalje, od devet bolesnika koji su u našoj seriji dobijali metotreksat kod dvoje postojala je IPB na HRCT i kod oba osnovna SBVT bila je SS u toku koje je IPB bila najčešća. Od ostalih sedam, dva je imalo restrikciju ventilacije lakog stepena, dok ostalih pet nije imalo nikakve respiratorne simptome. Kod jednog bolesnika koji je dobijao ciklofosamid IPB je bila prisutna. Od ostala dva bolesnika kod kojih je takođe, potvrđena IPB jedan je dobijao KS, a jedan AM. Za pravilniju procenu uticaja primenjenog načina lečenja na pojavu IPB bio bi potreban veći uzorak ispitanika.

### Zaključak

Polovina bolesnika sa SBVT obuhvaćenih ovim ispitivanjem, klinički je imala znake zahvaćenosti pluća. Poremećaj testova plućne funkcije različitog stepena javlja se kod oko dve petine ovih bolesnika. Plućna fibroza nastaje kod oko 10% bolesnika sa SBVT i najverovatnije nije u vezi sa primenjivanim režimima lečenja. Pojava hipoksemije mogla bi ukazati na prisustvo plućne fibroze u odsustvu promena na standardnoj radiografiji pluća. Ispoljavanje i težina poremećaja plućne funkcije nije u vezi sa dužinom evolucije SBVT.

### L I T E R A T U R A

1. *Minai OA, Dweik RA, Arroliga AC.* Manifestations of scleroderma pulmonary disease. *Clin Chest Med* 1998; 19(4): 713–31, viii–ix.
2. *Murin S, Wiedemann HP, Matthay RA.* Pulmonary manifestations of systemic lupus erythematosus. *Clin Chest Med* 1998; 19(4): 641–65, viii.
3. *Hunninghake GW, Fauci AS.* Pulmonary involvement in the collagen vascular diseases. *Am Rev Respir Dis* 1979; 119(3): 471–503.
4. *Anaya JM, Diethelm L, Ortiz LA, Gutierrez M, Citera G, Welsh RA, et al.* Pulmonary involvement in rheumatoid arthritis. *Semin Arthritis Rheum* 1995; 24(4): 242–54.
5. *Horton MR.* Rheumatoid arthritis associated interstitial lung disease. *Crit Rev Comput Tomogr* 2004; 45(5–6): 429–40.
6. *Lomeo RM, Cornella RJ, Schabel SI, Silver RM.* Progressive systemic sclerosis sine scleroderma presenting as pulmonary interstitial fibrosis. *Am J Med* 1989; 87(5): 525–7.
7. *Morelli S, Barbieri C, Sgreccia A, Ferrante L, Pittoni V, Conti F, et al.* Relationship between cutaneous and pulmonary involvement in systemic sclerosis. *J Rheumatol* 1997; 24(1): 81–5.
8. *Warrick JH, Bhalla M, Schabel SI, Silver RM.* High resolution computed tomography in early scleroderma lung disease. *J Rheumatol* 1991; 18(10): 1520–8.
9. *Pellegrino R, Viegi G, Brusasco V, Crapo RO, Burgos F, Casaburi R, et al.* Interpretative strategies for lung function tests. *Eur Respir J* 2005; 26(5): 948–68.
10. *Bestall JC, Paul EA, Garrod R, Garnham R, Jones PW, Wedzicha JA.* Usefulness of the Medical Research Council (MRC) dyspnoea scale as a measure of disability in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 1999; 54(7): 581–6.
11. *Takahashi H, Kuroki Y, Tanaka H, Saito T, Kurokawa K, Chiba H, et al.* Serum levels of surfactant proteins A and D are useful biomarkers for interstitial lung disease in patients with progressive systemic sclerosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162(1): 258–63.
12. *Yanaba K, Hasegawa M, Hamaguchi Y, Fujimoto M, Takehara K, Sato S.* Longitudinal analysis of serum KL-6 levels in patients with systemic sclerosis: association with the activity of pulmonary fibrosis. *Clin Exp Rheumatol* 2003; 21(4): 429–36.
13. *Franquet T.* High resolution computed tomography of the lungs. In: *Wills AU, Denton CP*, editors. *Pulmonary involvement in systemic autoimmune diseases.* London: Elsevier; 2004. p. 25–44.
14. *Steen VD, Conte C, Owens GR, Medsger TA Jr.* Severe restrictive lung disease in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 1994; 37(9): 1283–9.
15. *Wells AU, Hansell DM, Rubens MB, King AD, Cramer D, Black CM, et al.* Fibrosing alveolitis in systemic sclerosis: indices of lung function in relation to extent of disease on computed tomography. *Arthritis Rheum* 1997; 40(7): 1229–36.
16. *Dawson JK, Fenvis HE, Desmond J, Lynch MP, Graham DR.* Predictors of progression of HRCT diagnosed fibrosing alveolitis in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2002; 61(6): 517–21.
17. *Zisman DA, McCune WJ, Tino G, Lynch JP 3rd.* Drug-induced pneumonitis: the role of methotrexate. *Sarcoidosis Vasc Dif-fuse Lung Dis* 2001; 18(3): 243–52.

Rad je primljen 22. VII 2008.



## Dijabetes melitus – faktor rizika od nastanka osteoporoze

### Diabetes mellitus – a risk factor for the development of osteoporosis

Miljanka Vuksanović, Snežana Đurica, Branka Žerajić

Kliničko-bolnički centar "Zvezdara", Interna klinika, Centar za bolesti štitaste žlezde i hormonski uzrokovanu osteoporozu, Beograd

**Ključne reči:**  
osteoporoza; dijabetes melitus, tip 1; dijabetes melitus, tip 2; faktori rizika.

**Key words:**  
osteoporosis; diabetes mellitus, type 1; diabetes mellitus, type 2; risk factors.

#### Uvod

Osteoporoza je veoma rasprostranjena bolest koštanog sistema. Odlikuje je gubitak koštane mase po jedinici zapremine i poremećaj mikroarhitekture koštanog tkiva, što povećava rizik od pojave koštanih fraktura i od posledica koje one nose. Skelet, kao i sva ostala tkiva, tokom života podleže promenama, takozvanom procesu remodelovanja. Remodelovanje predstavlja dinamski proces u kome postoji ravnoteža između reapsorpcije (koja se odvija uz pomoć osteoklasta) i formiranja kosti (koja se odvija pod dejstvom osteoblasta). Remodelovanje kosti je pod kontrolom sistemski oslobođenih proresorptivnih faktora i lokalno stvorenih faktora rasta, citokina i prostaglandina. Najznačajniji su interleukini (IL-1, IL-6, IL-11), faktor nekroze tumora alfa (TNF- $\alpha$ ), aktivator receptora za nuklearni faktor kappa B ligand (RANKL), faktor stimulacije granulocitno-makrofagne kolonije (GM-CSF) i faktor rasta-1 sličan insulinu (IGF-1)<sup>1</sup>. Reapsorpcija se odvija tokom 3–20 dana, a za formiranje kosti potreban je duži period od 60 do 160 dana<sup>2</sup>.

Genetski faktori predstavljaju važne determinante za postizanje maksimuma koštane mase, kao i za gubitak koštane mase tokom godina, sa oko 60–70% uticaja. Ispitivani su mnogi genski lokusi koji nose rizik osteoporoze, kao npr. polimorfizam kolagena tip 1 alfa I (COL1A1), estrogenskog receptora (ER), vitamin D receptora (VDR), TNF- $\alpha$ , osteoprotegerina (OPG). Vitamin D deluje preko svojih receptora na apsorpciju kalcijuma, diferencijaciju koštanih ćelija i mineralizaciju. Estrogen, preko svojih receptora (ER- $\alpha$  i ER- $\beta$ ), utiče na rast skeleta, njegovo sazrevanje i na gubitak koštane mase u menopauzi. Tip 1 kolagen predstavlja glavnu komponentu kosti te mutacijom ovog gena nastaje bolest poznata kao osteogenezis imperfekta. Transformišići faktor rasta-beta (TGF- $\beta$ ) reguliše osteoblast-osteoklast spojnicu. Faktor IL-6

reguliše rast osteoklasta i njihovu diferencijaciju i medijator je efekta polnih hormona na kost<sup>1</sup>.

Starenjem, kao i u različitim kliničkim oboljenjima remeti se proces remodelovanja kosti; stvaranje kosti je mnogo manje izraženo od reapsorpcije kosti, što dovodi do negativnog bilansa jona kalcijuma. Kalcijum iz kosti mobilizuje se i ekskretuje urinom, u plazmi se povećava koncentracija jona kalcijuma što dovodi do smanjenja nivoa parathormona (PTH) i 1,25-hidroksi vitamina D, a to rezultuje smanjenjem apsorpcije jona kalcijuma iz creva. Kalcitropni hormoni (PTH, 1,25-dihidroksi vitamin D) zajedno deluju na porast remodelovanja kosti<sup>3</sup>.

Poremećaji u sekreciji i oslobađanju nekih hormona utiču na nastanak i ispoljavanje osteoporoze. Endokrina aktivnost organizma, uticaj hemodinamskih, vaskularnih, biohemijskih, a naročito enzimskih činilaca menja se sa godinama. Kvalitet ćelijskih membrana, konformacija lipoproteina u njoj, koji su pod uticajem rastućih količina nastalih slobodnih radikala, zatim nestabilnost regulacijskih gena, izmenjeno ćelijsko prenošenje signala glavni su modulatori endokrinih poremećaja<sup>3</sup>. Hormonska disfunkcija (endokrinopatije) u osnovi uzrokuje sekundarnu osteoporozu. Nju odlikuje prethodno poznat uzrok nastanka i ispoljavanja endogenog ili egzogenog povećanja koncentracije kortikosteroida u serumu, nastanak primarnog, sekundarnog ili tercijarnog hiperparatireoidizma, deficit kalcitonina, smanjenje lučenja hormona rasta, tireoidna disfunkcija i dijabetes melitus.

Labaratorijska procena bolesnika sa osteoporozom obuhvata rutinske laboratorijske testove i biohemijske markere koštane reapsorpcije kojima se može proceniti promena i gubitak kosti, efekat terapije i proceniti rizik od frakture. Biohemijski markeri koštane promene mogu se meriti u krvi (serum/plazma) i u urinu. Marker reapsorpcije su: deokspiridinolin – meri se u urinu, amino- i karboksi-terminalni unakrs-

no povezani teleopeptid tip 1 kolagen (NTX i CTX) – u urinu i serumu. Nivo osteokalcina, koštano specifična alkalna fosfataza, aminoterminalni propeptid tip 1 kolagen (PINP) najčešće su mereni markeri formiranja kosti iz seruma.

### Dijabetes melitus i osteoporoza

Veza između dijabetesa i osteoporoze veoma je kompleksna. Još od kada je Albright prvi promovisao koncept dijabetesne osteopatije, mnoge studije su ispitivale nivo gustine kosti i rizik od nastanka osteoporoze kod dijabetes melitusa tip 1 (T1DM) i dijabetes melitusa tip 2 (T2DM)<sup>4,5</sup>. Nije iznenađujuće što ne postoji jedinstven entitet dijabetesne osteopatije, pre svega zbog: različite etiopatogeneze T1DM i T2DM, različitih mehanizama nastanka osteoporoze i različitih kliničkih manifestacija. Dijabetes utiče na kost multiplim mehanizmima, od kojih neki imaju kontradiktorne efekte. Oni uključuju promene u nivou insulina i IGF-1, hiperkalciuriju povezanu sa glikozurijom, smanjenom renalnom funkcijom, gojaznošću, lošom glikoregulacijom i visokim vrednostima glikoziliranog hemoglobina (HbA1c), što vodi pojavi angiopatije, neuropatije i inflamacijskog sindroma<sup>4,6,7</sup>.

### Patogeneza dijabetesne osteopatije

Smanjenje formiranja kosti predstavlja osnovni mehanizam koji vodi smanjenju koštane mase. Dijabetes je hronična bolest kod koje na remodelovanje kosti i smanjenje koštane gustine utiču: metabolička kontrola, dužina trajanja bolesti, pol, rasa, genetska predispozicija, pojava mikrovaskularnih komplikacija (slika 1).

leptin)<sup>6,8,9</sup>. Promene u nivou insulina (hiperinsulinemija) mogu potpomoći formiranju kosti. Nizak nivo insulina, kod T1DM i sa napredovanjem T2DM, može uzrokovati smanjenje BMD.

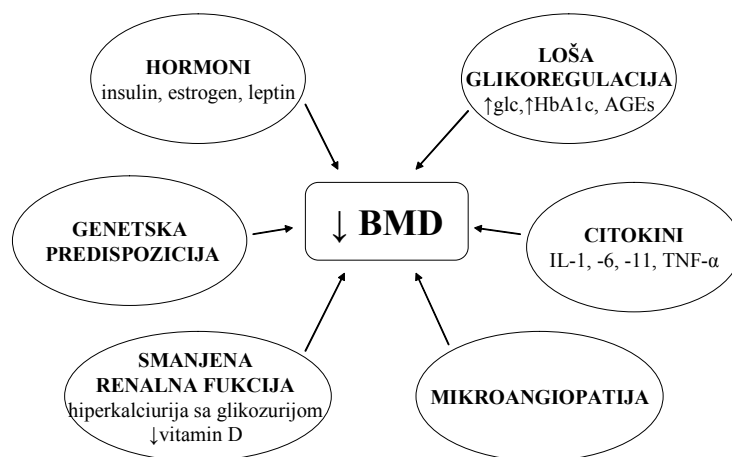
Loša glikoregulacija (stanja hiperglikemije) dovodi do stvaranja i akumulacije zavisnih produkata glikozilacije proteina (AGEs) u kolagenu. To utiče na menjanje mikroarhitekture kosti, smanjuje se njena snaga, a povećava fragilnost. Produžena loša glikoregulacija uslovljava pojavu metaboličke acidoze kod bolesnika sa šećernom bolesti što može da uzrokuje poremećaj metabolizma kalcijuma. Hiperkalciurija sa glikozurijom može uzrokovati stanja hipokalciemije, ubranu reapsorpciju kosti i nastanak osteoporoze. Kod dugogodišnjih dijabetičara koji imaju hroničnu burežnu insuficijenciju (HBI) kao komplikaciju i koji su na hroničnom programu hemodijalize, smanjena je mineralna gustina kortikalne kosti što je dobijeno merenjima na proksimalnim delovima radijusa i karlice čak i pri normalnim vrednostima serumskog PTH<sup>10</sup>.

Insulinu sličan faktor rasta-1 ima anabolički efekat na kost, ali je njegova koncentracija niska kod dijabetesa<sup>11</sup>.

Poznato je da su kod dijabetesa povišene vrednosti proinflamacijskih citokina (IL-1, IL-6, IL-11, TNF- $\alpha$ ) koji ubrzavaju koštani obrt i gubitak kosti<sup>8,12</sup>.

Mikrovaskularne komplikacije dijabetesa i smanjen protok krvi kroz kost, mogu doprineti gubitku kosti i njenoj fragilnosti.

Dijabetesna osteopenija takođe nastaje poremećajem regulacije metabolizma kalcijuma/PTH/vitamina D. Prisutna je hipokalciemija zbog smanjenog unosa, loše intestinalne apsorpcije kalcijuma i niske koncentracije serumskog 1,25-dihidroksi vitamina D. Nizak nivo vitamina D povezuje se sa povećanom koštanom reasorpcijom<sup>13</sup>.



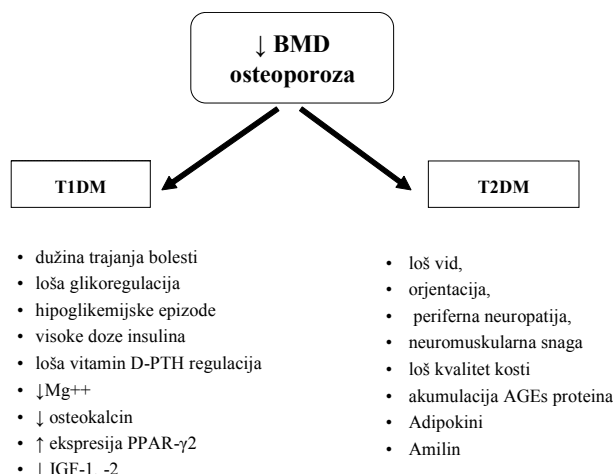
**Sl. 1 – Najčešći patogenetski činioci za pojavu osteoporoze kod bolesnika sa dijabetes melitusom**  
 BMD – mineralna gustina kosti (*bone mineral density*); glc – glikemija; HbA1c – glikozilirani hemoglobin; AGEs – završni produkt glikozilacije proteina; IL-1, IL-6, IL-11 – interleukin-1, interleukin-6, interleukin-11; TNF- $\alpha$  – faktor nekroze tumora.

Gojaznost, koja je prateća pojava kod T2DM, povezuje se sa povećanjem mineralne gustine kosti (*bone mineral density* – BMD) usled delovanja hormona (insulin, estrogen,

Hipomagnezemija kod bolesnika sa T2DM, takođe, može uticati na koštani metabolizam. Nizak nivo serumskog magnezijuma može pogoršati ne samo paratiroidnu funkciju

nego i mineralni sastav kosti<sup>14</sup>. Faktori rizika od gubitka koštane mase kod T1DM i T2DM dijabetesa, prikazane su na slici 2.

vodi do gubitka kosti i povećane masne infiltracije kostne srži. Studija na miševima sa T1DM ukazala je na smanjenje nivoa osteokalcina, a na porast ekspresije PPAR  $\gamma$ 2, sa posledičnim



**Sl. 2 – Faktori rizika za gubitak koštane mase kod dijabetes melitusa tipa 1 (T1DM) i dijabetes melitusom tipa 2 (T2DM)**  
BMD – mineralna gustina kosti (*bone mineral density*); PTH – paratireoidni hormon; Mg<sup>++</sup> – magnezijum; PPAR  $\gamma$ 2 – peroksizom proliferišući-aktivirajući receptori  $\gamma$ 2; IGF – faktor rasta sličan insulinu; AGEs – završni produkt glikozilacije proteina.

### Osteoporoza kod dijabetes melitusa tip 1

Dijabetes melitus tipa 1 povezuje se sa umerenim gubitkom koštane mase. Kemink i sar.<sup>12</sup> ističu da 67% muškaraca i 57% žena ima osteopeniju vrata butne kosti i /ili lumbalnih pršljenova ( $T\ score \leq -1\ SD$ ), dok 14–20% ima osteoporozu ( $T\ score \leq -2,5\ SD$ ) i to su većinom muškarci. Kao razlozi za nastanak osteoporoze kod T1DM navode se: rana pojava bolesti i nepostizanje koštanog maksimuma, dužina trajanja bolesti, preduga loša glikoregulacija i visoke terapijske doze insulina<sup>15</sup>. Loša vitamin D-PTH regulacija i hipomagneziemija predstavljaju još neke od razloga nastanka dijabetesne osteopatije kod ovog tipa dijabetesa<sup>16</sup>.

Histologija kosti kod T1DM pokazala je nizak koštani obrt zbog smanjene osteoblastne aktivnosti uz smanjenu ili normalnu osteoklastnu aktivnost<sup>6</sup>.

Smatra se da nizak nivo IGF-1 u T1DM nastaje usled insulinskog deficita i neadekvatne insulinizacije, dok je kod T2DM relativno očuvana funkcija beta-ćelija pankreasa. Insulin inhibiše produkciju IGF-vezujućih proteina (IGFBP-3), koji modulišu efekat IGF-1, ali stimuliše njegovu sintezu. Dužina trajanja dijabetesa negativno koreliše sa nivoom IGF-1 i IGFBP-3<sup>11</sup>. Nizak nivo IGF-1 može doprineti smanjenom koštanom formiranju, što vodi padu BMD tokom vremena.

Poznato je da je nivo osteokalcina odgovoran za sazrevanje osteoblasta. Nizak nivo u serumu bolesnika, prisutan je kod oba tipa dijabetesa i utiče na povećanje koštane reapsorpcije<sup>11,17</sup>. Funkcija osteoblasta značajno je smanjena i povezana je sa defektom sazrevanja. Serumski nivo ranih osteoblastnih markera, peptida prokolagena, ostaje normalan u svim tipovima dijabetesa, dok je nivo markera osteoblastne maturatione, osteokalcina, smanjen<sup>18</sup>. Prisutna je i prekomerna ekspresija peroksizom proliferišućeg-aktivirajućeg receptora  $\gamma$ 2 (PPAR  $\gamma$ 2) koji indukuje adipogenezu u pluripotentnim ćelijama i do-

smanjemem sazrevanja osteoblasta, porastom broja adipocita u kosti i gubitkom trabekularne kosti<sup>17</sup>. Mada porast PPAR  $\gamma$ 2 signala predstavlja uslov za pojavu gubitka koštane gustine kod T1DM bitno je i prisustvo PPAR  $\gamma$ 2 liganda koji omogućava vezivanje i aktivaciju ovih receptora. Poznato je da masne kiseline mogu aktivirati PPAR  $\gamma$ 2 i potpomoci diferencijaciju ćelije slične osteoblastima u ćelije slične adipocitima. To promovise hipotezu da povišen nivo triglicerida kod bolesnika sa dijabetesom predstavlja signal za PPAR  $\gamma$ 2 ekspresiju i posledični gubitak BMD.

Pojavi osteopenije kod T1DM doprinosi i loša vitamin D-PTH kontrola<sup>16</sup>. Visok nivo PTH (sekundarni hiperparatireoidizam) koji se nalazi u ranom stadijumu smanjene renalne funkcije, karakterističan je za T1DM. Normalan nivo serumskog kreatinina, čak u ranim stadijumima dijabetesne nefropatije sa mikroalbuminurijom doprinosi gubitku kosti, remeteći nivo komponenti IGF sistema<sup>14</sup>.

U *Fremantle Diabetes Study* (FDS), Rakić i sar.<sup>16</sup> ističu da muškarci sa T1DM, nakon podešavanja prema godinama i indeksu telesne mase (ITM), imaju značajno niži BMD na nivou vrata butne kosti, ali ne i na nivou kičme i podlaktice u odnosu na muškarce sa T2DM. Muškarci sa T1DM imali su veći nivo osteokalcina, PTH i ukupnog testosterona, nego muškarci sa T2DM<sup>16</sup>.

Žene sa T1DM imale su sličan BMD na nivou kičme i podlaktice, ali značajnije niži BMD na nivou vrata butne kosti u odnosu na žene sa T2DM. Kada su menopauza i hormonska supstitucionna terapija (HST) bili uključeni, jedina razlika u BMD, između ove dve grupe žena, zabeležena je na nivou kuka. Žene sa T1DM imale su veći nivo estradiola, ali niži nivo gonadotropina (FSH, LH) u odnosu na žene sa T2DM<sup>16</sup>. Žene u postmenopauzi koje imaju dijabetes, ili su ga dobile tokom menopauze, imaju povećan rizik prelom kuka nego žene koje nisu obbolele od dijabetesa<sup>19</sup>.

Povećana koštana resorpcija, a smanjena koštana izgradnja uočena je kod mladih sa T1DM, sa dužim trajanjem i lošom regulacijom bolesti<sup>16,20</sup>. Studija *The Diabetes Control and Complications Research Group* (DCCT) pokazala je da dobra metabolička kontrola, koja se postiže intenzivnom insulinskom terapijom, odlaže početak i usporava progresiju komplikacija osteoporozе. Campos Pastor i sar.<sup>20</sup> u sedmogodišnjoj studiji ispitivali su efekte metaboličke kontrole na mineralnu čvrstinu kosti kod bolesnika sa T1DM. Ova studija pokazala je da poboljšanje metaboličke kontrole kod bolesnika sa osteopenijom uzrokuje prekid destrukcije kako kortikalne, tako i trabekularne kosti. Pad nivoa tartarat-rezistentne kisele fosfataze (TRAP) podrazumeva manju koštanu resorpciju od strane osteoklasta. Prisustvo mikrovaskularnih komplikacija povećava rizik nastanka osteopenije kod T1DM, što je potvrđeno u ovoj studiji, gde su bolesnici sa retinopatijom imali smanjen BMD i visok HbA1c u odnosu na bolesnike bez retinopatije, uprkos intenzivnoj insulinskoj terapiji. Vrednost ITM signifikantno je rasla nakon intenziviranja insulinske terapije i u pozitivnoj je korelaciji sa BMD lumbalne kičme. Dužina trajanja dijabetesa ima negativan uticaj na BMD, te je zaključeno da trajanje bolesti, nutricion status, metabolička kontrola i prisustvo retinopatije (mikrovaskularnih komplikacija) čine glavne faktore u progresiji dijabetesne osteopenije<sup>20</sup>.

Kod T2DM veza je nejasna. Zabeleženi su porast, smanjenje, kao i nepromenjena gustina kosti, što se povezalo sa različitim etiologijom, ili se tumačilo kao posledica metodološki različitih ispitivanja. Neposredni dokazi za ovu diskrepancu ogledaju se u kompleksnoj patofiziologiji dijabetesa, kao i uticaju pola, starosti, terapije i trajanja bolesti<sup>7</sup>.

### Osteoporozа kod dijabetes melitusa tip 2

Uticaj T2DM na pojavu osteoporozе je kontroverzan. Različiti rezultati merenja gustine kosti dobijeni u studijama, najčešće ukazuju na povećanu BMD, na nepromenjenju ili smanjenu BMD (52% muškaraca i 31% žena ima osteopeniju vrata butne kosti i /ili lumbalnih pršljenova), dok 14–22% osoba sa T2DM ima osteoporozu<sup>21,22</sup>.

Istraživanja su pokazala da kod T2DM postoji povećan rizik od nastanka fraktura kosti uprkos povećanoj BMD<sup>6</sup>. Studija FDS pokazala je da loša metabolička kontrola dijabetesa (povišen HbA1c i trigliceridi) i prisutne hronične komplikacije imaju uticaja na smanjenje BMD kod T2DM. Neuropatija ima statistički značajan uticaj na BMD i prelom vrata butne kosti<sup>16</sup>.

Žene sa T2DM imaju dva do tri puta veću sklonost ka padu od zdravih žena, na šta utiču: loš vid, slabija orijentacija, periferna neuropatija, smanjena neuromuskularna snaga<sup>23–25</sup>. *In vivo* studija utvrdila je da loš kvalitet kosti podrazumeva smanjenu torzionu snagu, ugaonu deformaciju i apsorpciju tenzionih sila, a da se pri tome značajno ne menja BMD<sup>6</sup>. Objašnjenje za smanjenu snagu kosti leži u akumulaciji zavisnih produkata glikozilacije proteina (AGEs) u koštanoj kolageni. Stanja hronične hiperglikemije dovode do neenzimske glikozilacije kolagena i nastanka AGEs koji se akumuliraju sa godinama i povećavaju koštanu fragilnost. Takođe, AGEs utiču na metabolizam koštanih ćelija, inhibišu fenotipsku ekspre-

siju osteoblasta, povećavaju osteoklast-indukovanu reapsorpciju kosti, stimulišu produkciju IL-6 i apoptozu osteoblasta<sup>7</sup>. Postoji značajna korelacija između deponovanja AGE formacija i stepena izraženosti dijabetesnih komplikacija<sup>6</sup>.

Poznato je da telesna masa i ITM visoko korelišu sa koštanoj masom i da su pozitivno povezani sa niskim stepenom fraktura kosti<sup>9</sup>. Sve više dokaza sugerišu postojanje pozitivne korelacije između masnog tkiva (*fat mass* – FM) i BMD uz posredovanje biohemijskog faktora, adiponektina.

Adiponektin, novi hormon koji sintetišu adipociti, reguliše energetska homeostazu, ima antiinflamacijski i antiaterogeni efekat. Strukturno je sličan TNF- $\alpha$  familiji (RANK-L, OPG) koja učestvuje u procesu osteoklastogeneze. Za razliku od ostalih adipokina (leptin, resistin, TNF- $\alpha$ , IL-6), nivo adiponektina se smanjuje kod gojaznosti i T2DM<sup>9,26</sup>. Lenchik i sar.<sup>9</sup> ispitivali su povezanost serumskog adiponektina sa BMD, FM, serumskog leptina i solubilnih leptinskih receptora kod 38 žena i 42 muškarca sa T2DM. Rezultati pokazuju da su vrednosti adiponektina u obrnutoj srazmeri povezane sa vrednostima BMD i visceralnom gojaznošću. Postoji značajna korelacija između adiponektina i BMD na nivou kičmenih pršljenova merenih sa fotonskom apsorpciometrijom (DXA *scan*). Rezultati pokazuju da adiponektin može imati udela u protektivnoj ulozi koju visceralno masno tkivo ima na BMD. Međutim, povezanost adiponektina sa supkutanom količinom masti i serumskim leptinom nije bila signifikantna. Da li insulinska senzitivnost ima udela u povezanosti adiponektina i BMD, ostaje nejasno, pa zahteva dalja istraživanja.

Leptin, takođe, ima glavnu ulogu u regulisanju koštanog metabolizma. Regulise osteoblastnu aktivnost i ima posebnu ulogu u patogenezi T2DM. Leptin nije povezan sa BMD, ali pozitivno koreliše sa supkutanom masnim tkivom i abdominalnim masnim tkivom<sup>8,9</sup>.

Telesna masa zavisi od masnog tkiva za koje je dokazano da pokazuje pozitivnu povezanost sa BMD. Masno tkivo može modulirati biohemijske signale koji mogu uticati na koštanu gustinu. Leptin se primarno sekretuje iz masnog tkiva i pozitivno koreliše sa tim<sup>9</sup>. Uloga adiponektina i drugih adipospecifičnih proteina koji su, nasuprot leptinu, smanjeni u gojaznosti, nisu dovoljno poznati. Gojaznost je povezana sa T2DM i sa hiperestrogenemijom, koji mogu da smanje rizik od fraktura kuka među gojaznim osobama.

Amilin je polipeptidni hormon koji proizvode beta-ćelije pankreasa i pripada familiji kalcitonin oslobađajućih peptida. Oko 20% sekvenci amilina homologno je sa kalcitoninom, a 44% sa kalcitonin oslobađajućim peptidima. Amilin i njegovi fragmenti stimulišu proliferaciju osteoblasta, inhibišu koštanu apsorpciju, povećavaju koštanu gustinu i količinu koštane mase<sup>27</sup>.

Amilin, adrenomedulin i kalcitonin regulišu koštanu ćelijsku aktivnost i imaju anabolički efekat na kost. *In vivo* i *in vitro* studije pokazale su da amilin ima mitogeni efekat na osteoblaste, da smanjuje broj i aktivnost osteoklasta i da povećava koštanu masu nakon sistemskog davanja kod miševa<sup>28</sup>. Adrenomedulin, takođe, povećava proliferaciju osteoblasta *in vivo* i *in vitro*, ali nema uticaja na formiranje i funkciju osteoklasta. Amilin ispoljava svoju mitogeni aktivnost na osteoblaste pored peptida kao što su tirostimulišući faktor rasta- $\beta$  (TGF- $\beta$ )

i C-terminalni fragment paratireoidnog hormon-oslobađajućeg peptida (PTHrP), za razliku od IGF-1 i insulina<sup>28</sup>. Za ispoljavanje svoje mitogene aktivnosti na osteoblastima i fibroblastima amilina zahteva prisustvo funkcionalnih IGF-1 receptora, a za uzvrat na proliferacioni odgovor osteoblasta IGF-1 zahteva funkcionalne amilinske receptore. Podaci govore o postojanju unakrsnih mitogenih signala aktivisanih IGF-1, amilinom i adrenomedulinom na osteoblaste. Istovremeno prisustvo amilina i IGF-1 nema kumulativno dejstvo na osteoblaste i njihov ćelijski rast, a neutralizacija IGF-1 receptora inhibiše proliferativnu sposobnost amilina koji on ima na kulturu osteoblastnih ćelija. Kalcitonin gen oslobađajući peptid stimuliše produkciju IGF-1 od strane osteoblasta<sup>27</sup>.

U studiji Bronskog i Prusa<sup>27</sup> praćen je nivo ukupnog amilina, neredukovanog preprandijalnog amilina kod tri grupe ispitanika (osobe sa osteoporozom, osobe sa dijabetesom i zdrave osobe). Nivo ukupnog amilina bio je najmanji u grupi sa osteoporozom ( $3,33 \pm 0,46$  pmol/l). U grupi sa T2DM bio je  $6,29 \pm 1,47$  pmol/l, a kod zdravih  $8,48 \pm 3,12$  pmol/l. Ista situacija bila je i sa neredukovanim nivoom amilina. Nije nađena korelacija između ispitivanih grupa, nivoa amilina i godina starosti, kao ni korelacija sa ITM. Srednji nivo amilina nije se razlikovao između muškaraca i žena.

Poznato je da nivo amilina raste postprandijalno, a dnevni profil plazma amilina odgovara profilu insulina. On doprinosi regulaciji postprandijalnih glikemija supresijom oslobađanja glukagona i usporavanjem gastričnog pražnjenja. Deficit amilina tipičan je za T1DM i kasnu fazu T2DM<sup>27</sup>. U studiji Bronskog i Prusa<sup>27</sup> bolesnici sa dijabetesom imali su niži nivo amilina nego kontrolna grupa, što je potvrdilo hipotezu o lošoj beta-ćelijskoj funkciji sa posledičnim deficitom amilina u perifernoj krvi ovih bolesnika. Došlo se do zaključka da deficit amilina i njegovih različitih formi (*amylin-like peptides*) doprinosi razvoju osteoporoze, što će svakako biti i dalji predmet ispitivanja. Već postoji sintetički analog amilina (pramlintid) koji je pogodan za supkutanu primenu kod bolesnika sa dijabetesom<sup>29,30</sup>.

Istraživanja su pokazala da lečenje dijabetesa može da utiče na metabolizam kosti i koštanu gustinu. Bolesnici na terapiji oralnim hipoglikemicima imaju veće smanjenje BMD, ne-

go oni na insulinskoj terapiji. Naprotiv, povišen nivo mineralne gustine kosti uočen je kod T2DM čak i kod onih na insulinskoj terapiji (anabolički efekat insulina). Jedna američka studija ispitivala je anabolički efekat endogenog insulina, egzogenog insulina, insulinske senzitivnosti i insulinskih signala na kost, u kojoj je potvrđeno da insulin ima anabolički efekat na kost, da može da sačuva i poveća gustinu kosti i koštanu snagu<sup>31</sup>.

Mnogi anabolički agensi potpomažu koštani rast stimulacijom proliferacije osteoblasta. Na primer, TGF- $\beta$  i IGF-1 su potentni mitogeni osteoblasta<sup>28</sup>.

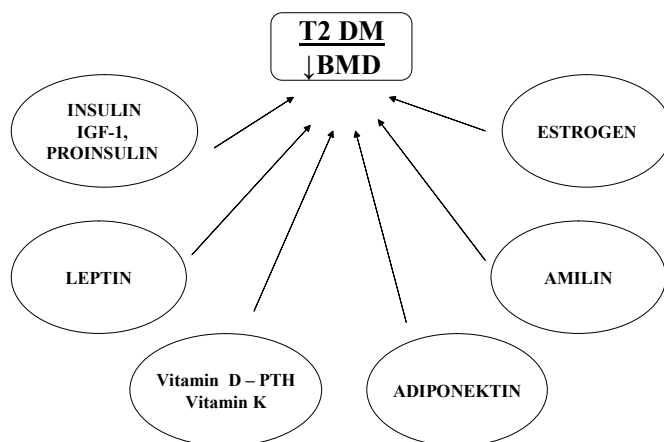
Insulin se smatra sistemskim regulatorom koštane formacije, delujući na osteoblaste preko IGF-1 receptora<sup>14</sup>. Razlika u stepenu insulinopenije i gubitka beta-ćelijske funkcije pankreasa delom objašnjava različite vrednosti BMD kod T2DM. Gubitak BMD kod T2DM veći je kod onih bolesnika koji uzimaju oralne hipoglikemijske agense nego kod onih na insulinskoj terapiji<sup>14,32</sup>. Insulinska infuzija, tokom dve nedelje, ubrzano povećava i popravlja broj osteoblasta, normalizuje serumski nivo osteokalcijuma i IGF-1. Kontinuirana infuzija IGF-1 ne povećava broj osteoblasta, ali značajno stimuliše mineralizaciju kosti. Nizak nivo insulinske sekrecije, insulinska rezistencija, hiperglikemija i adipokini predstavljaju važne deteminante metaboličkih promena na kostima kod dijabetesa<sup>5,19,33</sup>.

Rizik od preloma kuka raste kod žena sa T2DM koje nisu na insulinskoj terapiji, dok je kod žena na insulinskoj terapiji rizik sličan kao kod žena koje nemaju dijabetes<sup>19</sup>.

Proinsulinu, takođe, daje se uloga u koštanom formiranju kod T2DM. Postoji veza između gojaznosti i povišenog nivoa proinsulina, kao i pozitivna korelacija između urinarnog C-peptida, BMD i ITM, te je moguće da rezidualna proinsulinska sekrecija, kod T2DM, ima zaštitni efekat na kost. Proinsulin to ostvaruje preko IGF sistema.

Od ostalih faktora koji utiču na BMD navode se način života, fizička aktivnost, način ishrane (unos kalcijuma, vitamina D, cinka) koji imaju velikog uticaja na čvrstinu kosti kod T2DM<sup>34</sup>. Jedna *in vivo* studija pokazala je da vitamin K (menatetrenon) može da popravi kvalitet oštećenog mesta kosti kod dijabetičara<sup>35</sup>.

Patogenetski činioci koji doprinose smanjenju koštane gustine i pojavi osteoporoze u T2DM prikazani su na slici 3.



Sl. 3 – Patogenetski činioci koji doprinose smanjenju koštane gustine kod dijabetes melitusa tip 2 (T2DM)

T2DM – dijabetes melitus tip 2; BMD – mineralna gustina kosti (*bone mineral density*);  
IGF-1 – faktor rasta-1 sličan insulinu; PTH – paratireoidni hormon.

## Zaključak

Osteoporoza je važan zdravstveni problem. Prisutan je kod svake treće žene u postmenopauzi i povezuje se sa značajnim morbiditetom i mortalitetom.

Žene sa dijabetesom u postmenopauzi imaju povećan rizik od preloma kuka nego žene koje nisu dijabetičari, tako da strategija prevencije osteoporoze kod svih bolesnika sa dijabetesom ima smisla, naročito kod žena obolelih od dijabetesa.

Dokazi da populacija starih sa dijabetesom ima povećan rizik od fraktura kosti daju novi podsticaj za dalja istraživanja fokusirana na kost i dijabetes. Ona bi trebala da razjasne uticaj različitih aspekata dijabetesnog metabolizma, poboljšanja kontrole glikemije i uticaja lečenja dijabetesa na kosti.

Određivanje (procena) kvaliteta kosti uključivala bi standarde merenja BMD, kao i razvoj novih pristupa merenju glikoziliranog kolagena. Bolje shvatanje i sagledavanje uticaja dijabetesa na kost povećava mogućnost očuvanja kosti i preveniranja pojave fraktura kod osoba sa dijabetesom.

Takođe, neophodno je ustanoviti optimalni izbor ispitivanih biohemijskih markera i napraviti standardizaciju merenja koštane mase kod obolelih od dijabetesa.

U kliničkoj praksi pristup bolesniku sa dijabetesnom osteopatijom trebalo bi da bude individualan, prema stanju promena i profilu rizika, a da dijagnostikovanje i terapijski postupci postanu rutina.

## L I T E R A T U R A

- Rizzoli R. Atlas of postmenopausal osteoporosis. 2nd ed. Current Medicine Group LTD; 2005.
- Vujanović S. Menopause. Belgrade: School of Medicine; 1998. (Serbian)
- Đurica S. Hormone induced osteoporosis. Belgrade: Grafolik; 2005. (Serbian)
- Hofbauer LC, Brueck CC, Singh SK, Dobnig H. Osteoporosis in patients with diabetes mellitus. *J Bone Miner Res* 2007; 22(9): 1317–28.
- Takamoto I, Kadowaki T. Diabetes and osteoporosis. *Clin Calcium* 2004; 14(2): 255–61. (Japanese)
- Schwartz AV. Diabetes Mellitus: Does it Affect Bone? *Calcif Tissue Int* 2003; 73(6): 515–9.
- Raska I Jr, Broulik P. The impact of diabetes mellitus on skeletal health: an established phenomenon with inestablished causes? *Prague Med Rep* 2005; 106(2): 137–48.
- Leidig-Bruckner G, Ziegler R. Diabetes mellitus a risk for osteoporosis? *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2001; 109 Suppl 2: S493–514.
- Lenchik L, Register TC, Hsu FC, Lobman K, Nicklas BJ, Freedman BI, et al. Adiponectin as a novel determinant of bone mineral density and visceral fat. *Bone* 2003; 33(4): 646–51.
- Zayour D, Daouk M, Medawar W, Salamoun M, El-Hajj Fuleihan G. Predictors of bone mineral density in patients on hemodialysis. *Transplant Proc* 2004; 36(5): 1297–301.
- Jehle PM, Jehle DR, Mohan S, Böhm BO. Serum levels of insulin-like growth factor system components and relationship to bone metabolism in Type 1 and Type 2 diabetes mellitus patients. *J Endocrinol* 1998; 159(2): 297–306.
- Kemink SA, Hermus AR, Swinkels LM, Lutterman JA, Smals AG. Osteopenia in insulin-dependent diabetes mellitus; prevalence and aspects of pathophysiology. *J Endocrinol Invest* 2000; 23(5): 295–303.
- Carnevale V, Romagnoli E, D'Erasmio E. Skeletal involvement in patients with diabetes mellitus. *Diabetes Metab Res Rev* 2004; 20(3): 196–204.
- Hampson G, Evans C, Pettit RJ, Evans WD, Woodhead SJ, Peters JR, et al. Bone mineral density, collagen type 1 alpha 1 genotypes and bone turnover in premenopausal women with diabetes mellitus. *Diabetologia* 1998; 41(11): 1314–20.
- McCabe LR. Understanding the pathology and mechanisms of type 1 diabetic bone loss. *J Cell Biochem* 2007; 102(6): 1343–57.
- Rakić V, Davis WA, Chubb SA, Islam FM, Prince RL, Davis TM. Bone mineral density and its determinants in diabetes: the Fremantle Diabetes Study. *Diabetologia* 2006; 49(5): 863–71.
- Botolin S, Fangere MC, Malluche H, Orth M, Meyer R, McCabe LR. Increased bone adiposity and peroxisomal proliferator-activated receptor-gamma2 expression in type I diabetic mice. *Endocrinology* 2005; 146(8): 3622–31.
- Alexopoulou O, Jamart J, Devogelaer JP, Bricard S, de Nayer P, Buyschaert M. Bone density and markers of bone remodeling in type 1 male diabetic patients. *Diabetes Metab* 2006; 32(5 Pt 1): 453–8.
- Nicodemus KK, Folsom AR; Iowa Women's Health Study. Type 1 and type 2 diabetes and incident hip fractures in postmenopausal women. *Diabetes Care* 2001; 24(7): 1192–7.
- Campos Pastor MM, López-Ibarra PJ, Escobar-Jiménez F, Serrano Pardo MD, García-Cervigón AG. Intensive insulin therapy and bone mineral density in type 1 diabetes mellitus: a prospective study. *Osteoporos Int* 2000; 11(5): 455–9.
- Hanley DA, Brown JP, Tenenhouse A, Olszynski WP, Ioannidis G, Berger C, et al. Associations among disease conditions, bone mineral density, and prevalent vertebral deformities in men and women 50 years of age and older: cross-sectional results from the Canadian Multicentre Osteoporosis Study. *J Bone Miner Res* 2003; 18(4): 784–90.
- Tuominen JT, Impivaara O, Pnuukka P, Rönnemaa T. Bone mineral density in patients with type 1 and type 2 diabetes. *Diabetes Care* 1999; 22(7): 1196–200.
- Schwartz AV, Hillier TA, Sellmeyer DE, Resnick HE, Gregg E, Ensrud KE, et al. Older women with diabetes have a higher risk of falls: a prospective study. *Diabetes Care* 2002; 25(10): 1749–54.
- Mascitelli L, Pezzetta F. Diabetes and osteoporotic fractures. *CMAJ* 2007; 177(11): 1391–2.
- Takeuchi Y. Metabolic bone diseases in patients with diabetes mellitus. *Nippon Rinsho* 2006; 64(9): 1697–702. (Japanese)
- Weyer C, Funabashi T, Tanaka S, Hotta K, Matsuzawa Y, Pratley RE, et al. Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86(5): 1930–5.
- Bronský J, Průša R. Amylin fasting plasma levels are decreased in patients with osteoporosis. *Osteoporos Int* 2004; 15(3): 243–7.
- Cornish J, Naot D, Reid IR. Adrenomedullin – a regulator of bone formation. *Regul Pept* 2003; 112(1–3): 79–86.
- Samsom M, Szarka LA, Camilleri M, Vella A, Zinsmeister AR, Rizza RA. Pramlintide, an amylin analog, selectively delays gastric emptying: potential role of vagal inhibition. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2000; 278(6): G946–51.



30. *Bronsky J, Prísa R, Nevoral J.* The role of amylin and related peptides in osteoporosis. *Clin Chim Acta* 2006; 373(1–2): 9–16.
31. *Thraülkill KM, Lumpkin CK Jr, Bunn RC, Kemp SF, Fowlkes JL.* Is insulin an anabolic agent in bone? Dissecting the diabetic bone for clues. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2005; 289(5): E735–45.
32. *Ilić J, Konačev B.* Diabetic osteopathy. *Med Pregl* 2005; 58(3–4): 147–52. (Serbian)
33. *Buday B, Horváth T, Kulcsár E, Salamon C, Literáti Nagy B, Barta K, et al.* Effect of progressive insulin resistance on the correlation of glucose metabolism and bone status. *Orv Hetil* 2007; 148(24): 1127–33. (Hungarian)
34. *de Luis Román DA, Aller R, Pérez Castrillon JL, De Luis J, González Sagrado M, Izaola O, et al.* Effects of dietary intake and life style on bone density in patients with diabetes mellitus type 2. *Ann Nutr Metab* 2004; 48(3): 141–5.
35. *Wada S.* Therapeutic approaches for diabetic osteopathy. *Clin Calcium* 2006; 16(8): 1297–304. (Japanese)

Rad je primljen 6. III 2008.



## Etiology and pathogenesis of chronic rhinosinusitis

### Etiologija i patogeneza hroničnog rinosinuzitisa

Aleksandar Perić\*, Dejan Gaćeša†

Military Medical Academy, \*Clinic for Otorhinolaryngology, Belgrade;

†ENT Hospital "Dr Žutić", Belgrade

#### Key words:

rhinitis; sinusitis; chronic disease; causality; diagnosis.

#### Ključne reči:

rinitis; sinuzitis; hronična bolest; bolest, etiološki faktori; dijagnoza.

#### Introduction

Chronic rhinosinusitis (CRS) is defined as inflammation of the nose and the paranasal sinuses characterised by two or more symptoms, one of which should be either nasal blockage/obstruction/congestion or nasal discharge (anterior, posterior nasal drip) + facial pain/pressure + reduction or loss of smell sensation of smell and either endoscopic signs of polyps and/or mucopurulent discharge primarily from the middle *meatus* and/or edema/mucosal obstruction primarily in middle *meatus*, and/or computerized tomography (CT) changes showing mucosal changes within the ostiomeatal complex and/or sinuses from more than 12 weeks<sup>1</sup>.

It is an increasingly common cause of patients visits to physicians and the principal diagnosis in nearly 2% of them<sup>2</sup>. The prevalence of rhinosinusitis is estimated to be 14% of the global population<sup>3</sup>. The location and extent of different rhinosinusitis pathological conditions imply a detailed knowledge of anatomic organization of paranasal sinuses, and the first and foremost of ethmoid sinuses. The structures of the lateral nasal wall and paranasal sinuses fall into two anatomically and physiologically distinct categories: the anterior and posterior ethmoid complex. The basal lamella of the middle turbinate is the distinct separation between the two ethmoid complexes. The ostiomeatal complex (OMC) is a functional entity of the anterior ethmoidal complex that represents the final common pathway for drainage and ventilation of the frontal, maxillary and anterior ethmoid cells. The sphenoidal recess is a functional entity of the posterior ethmoid complex that represents the final common pathway for drainage and ventilation of the sphenoid and posterior ethmoid cells. Three clinical entities of CRS may be defined: chronic rhinitis, localized sinusitis and diffuse rhinosinusitis<sup>2</sup>.

Chronic rhinosinusitis is a multifactorial disease. Predisposing factors can be divided into: local host factors, general host factors and environmental or non-host factors<sup>1,4</sup>.

#### Local host factors

##### *Anatomic variations*

Certain anatomic variations such as concha *bullosa*, nasal septal deviation and a displaced uncinat process have been suggested as potential risk factors for developing CRS<sup>1</sup>. The ethmoid sinus area (OMC) is believed to be a major focus for the initiation of CRS<sup>4</sup>. The overall incidence of inflammatory disease in OMC in symptomatic patients is not different between those with and without concha *bullosa*. However, there were many cases in which an abnormally large middle turbinate appeared to obstruct OMC causing secondary infection of the ethmoid, frontal and maxillary sinuses<sup>5</sup>. Sinus disease usually starts in the middle of nasal meatus. Many conditions cause narrow or blocking of this space resulting in retention of nasal secret and poor ventilation. Sometimes very localized areas of contact of opposing mucosal surfaces in these key areas of the anterior ethmoid may lead to such a blockage, which in turn may alter nasal function. If opposing mucosal areas come into intense contact, their ciliary beating either stops or is impeded. The mucus between these contacting areas is no longer transported. This stasis provides an ideal condition for viral and bacterial infection<sup>6</sup>. Although OMC is important in CRS, it is not the underlying cause of the disease, and the importance of anatomic anomalies is often overestimated<sup>1,4</sup>. Bhattacharyya<sup>7</sup> has shown that maxillary sinus retention cysts do not reflect persistent obstructive pathology on OMC, and are not associated with potentially obstructive anatomic sinus variations. Some studies suggest that concha *bullosa* may have a role in CRS etiology, while some other suggest that there is no statistically significant relationship between the presence of a unilateral or dominant concha *bullosa* and OMC, maxillary and frontal sinus disease<sup>8,9</sup>.

Chronic rhinosinusitis is an important clinical problem in pediatric patients. The characteristics of CRS in children

are very different from those in adults<sup>10</sup>. Kim et al.<sup>10</sup> have found that agger nasi cell is the most common anatomical variation, followed by septal deviation, Haller cell, concha bullosa, paradoxical middle turbinate, and Onodi cell. However, they have not found any significant relationship between CRS and anatomic variations. Adenoid vegetation may cause nasal discharge that is not necessarily due to sinusitis. We could not find any supportive data for the statement that “the greater the adenoid tissue, the more extensive sinusitis”<sup>11</sup>.

### General host factors

General host factors, such as genetic factors and immunodeficiency, significantly increase the potential for the development of CRS<sup>4</sup>.

#### *Genetic factors*

The role of genetic factors in some disorders that predispose to CRS is well defined, for example, cystic fibrosis (CF), Young's syndrome, primary ciliary dyskinesia, congenital immunodeficiency syndrome and MUC8 mucin gene up-regulation. Kennedy<sup>4</sup> mentioned that mutation of the CF genes were significantly more common in patients with CRS than in controls (7% vs. 2%), even after exclusion of a patient with undiagnosed CF. Although the carrier frequency for CF ranges from 3–4% in the general population, the prevalence of mutation in the CF transmembrane conductance regulator (CFTR) among the patients with CRS is unknown<sup>1,12,13</sup>. These observations suggest that mutations of genes responsible for CF may be associated with the development of CRS<sup>1,4</sup>. Chronic rhinosinusitis is a common debilitating disease principally affecting sinonasal epithelial function with a resultant diminution of mucociliary transport. Although primary ciliary dyskinesia is commonly associated with CRS, little is known about how this process affects the sinonasal epithelial ciliated cells<sup>14</sup>.

Mucus secretion by both goblet cells and submucosal gland cells is one of the most important defense mechanisms in the nose and paranasal sinuses. However, excessive mucus production characterizes upper airway diseases such as CRS and allergic rhinitis. The major macromolecular constituents of mucus are mucins, which are highly glycosylated proteins. The amount of mucus produced in the human airway is mainly balanced by the rate of production and clearance. A violation of this balance of mucus production and clearance may lead to many clinical problems. Mucus hypersecretion is a common feature in CRS. Heung-Man et al.<sup>15</sup> examined expression of MUC8 messenger RNA (mRNA) and protein in mucosae of patients with CRS and control subjects and found an increased synthesis of MUC8 mRNA and protein in the CRS specimens than in the normal sinus mucosae.

#### *Immunocompromised state*

Dysfunction of the immune system may occur during the life and present in CRS. T-lymphocytes showed abnormal proliferation in response to antigen recall. Low immunoglobulin (Ig) G, A and M titres were found in 18, 17 and

5% of the patients with refractory sinusitis, respectively<sup>1</sup>. The most common immune deficiency associated with CRS is an IgG subclass deficiency<sup>4</sup>. It was found that CRS was present in more than half of HIV-positive population<sup>1</sup>.

### Environmental and other non-host factors

Substantial evidences support the premise that environmental and other non-host-related factors, such as air pollution, smoke, allergens, viruses, fungi and bacteria, predispose individuals to CRS<sup>4</sup>.

#### *Air pollution*

Cigarette smoking was associated with a higher prevalence of CRS. In spite of *in vitro* data of the toxic effects of pollutants on respiratory epithelium, there is no convincing evidence of the etiologic role of toxins such as ozone in CRS<sup>1,16</sup>.

#### *Aspirin intolerance*

Samter's triad is a combination of CRS with nasal polyps, asthma and aspirin sensitivity. It is thought that aspirin and other nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) inhibit the activity of the enzyme cyclooxygenase-1 (COX-1) in the arachidonic acid metabolism pathway, resulting in an increase in the activity of the enzyme 5-lipoxygenase in the affected patients. The products of the 5-lipoxygenase pathway include the leukotrienes (LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub> and LTE<sub>4</sub>), which are potent inflammatory mediators that can induce mucus secretion, bronchoconstriction of the airway, and edema of the nasal mucosa and attract eosinophils into the airway<sup>17</sup>. Aspirin intolerant patients show elevated basal levels of leukotrienes and reduced basal levels of prostaglandin E<sub>2</sub><sup>18</sup>. Patients with Samter's triade generally tend to have more severe symptoms of CRS with nasal polyposis and asthma than do patients without the triad. Nasal polyposis was found in the majority of cases, often recurrent after previous surgery<sup>17,18</sup>.

#### *Allergy and asthma*

Review articles on CRS have suggested that atopy predisposes to its development, tempting to speculate that allergic inflammation in the nose predisposes the atopic individual to the development of CRS<sup>1</sup>. It has been postulated that swelling of the nasal mucosa in allergic rhinitis at the site of the sinus ostia may compromise ventilation and even obstruct them, leading to mucus retention and infection. Numerous of studies report that markers of atopy are more prevalent in population with CRS<sup>1,19</sup>. However, the role of allergy in CRS is questioned by other epidemiologic studies showing no increase in the incidence of infectious rhinosinusitis during the pollen season in pollen sensitized patients<sup>1</sup>.

The association between asthma and CRS has long been established. In general, CRS in patients with asthma tends to be more severe and refractory to conventional medical management than it is in patients without asthma<sup>19</sup>. Multiple theories have been proposed to explain the association between asthma and CRS. According to an early theory, sinus

material is aspirated into the lower airways, where it irritates the epithelium and exacerbates asthma<sup>1</sup>. According to another theory, which involves a proposed sinonasal-bronchial reflex, the bronchoconstriction that asthmatic patients experience is caused by CRS-induced vagal stimulation. Support for this mechanism is provided by the fact that many patients with asthma report an increase in asthma symptoms during acute episodes of CRS<sup>19</sup>. In patients with both asthma and CRS, respiratory epithelial cells produce a range of cytokines (interleukins: IL-3, IL-4, IL-5, IL-13, eotaxin and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor) that could affect the recruitment and activation of inflammatory leukocytes. The resultant increase in inflammatory mediators (histamine, thromboxane and leukotrienes) leads to the increased vascular permeability, mucus hypersecretion, ciliary impairment and mucosal edema, which can obstruct the sinus ostia and create an optimal environment for bacterial overgrowth<sup>19</sup>.

#### Fungal infection

The role of fungi in the causation of CRS is still controversial. The rate of fungal infection in the nasal passage by culture, histopathology, or polymerase chain reaction (PCR) is reported to be in the range of 26.7–93% in CRS<sup>20</sup>. Allergic fungal rhinosinusitis (AFR) is a noninvasive IgE-mediated form, accounting for 5–10% of all CRS cases, by conventional criteria<sup>1,21</sup>. By the Mayo Clinic criteria, chronic eosinophilic rhinosinusitis is present in nearly 100% of patients with rhinosinusitis or nasal polyposis<sup>21</sup>. The clinical features of AFR include refractory chronic sinusitis, presence of allergic mucin (containing fungal hyphae and sheets of eosinophils), tissue damage showing marked eosinophilia, positive skin test for allergy to the fungus found in the mucin, and the absence of any kind of invasive fungal involvement in the tissues<sup>21</sup>. Fungal rhinosinusitis tends to affect a relatively young population of individuals who are generally atopic and recognized as asthmatic<sup>21,22</sup>. Six steps was found in the pathogenesis of AFR: the host becomes sensitized to fungal antigens; fungal spores become trapped in nasal or sinus mucus and germinate into viable hyphae; in seasonal and perennial allergic rhinitis, the profile of T-cell cytokines in nasal tissue fits the classic Th2 profile, with the production of cytokines IL-3, IL-4, IL-5, IL-13, and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. These cytokines give rise to IgE production with local mast cell degranulation and accumulation of eosinophils and allergen-specific Th2 cells in allergic nasal tissue; eosinophils attack fungal hyphae and degranulate; the eosinophilic inflammatory process releases multiple cytokines and growth factors, which may contribute to airway remodeling and nasal polyp formation. The local inflammatory response probably also triggers a sys-

temic response with release of eosinophil precursors from the bone marrow<sup>21–23</sup>. Some studies have shown that nasal polyps contain increased numbers of IL-5-producing T-lymphocytes and CD34+ eosinophil precursor cells; damage occurs to the mucosa, facilitating bacterial penetration of the mucosa that leads to bacterial infection and further perpetuates an inflammatory process<sup>21,24</sup>.

#### Bacterial infection

Although CRS is not necessarily an infectious condition, bacteria are often found within the ethmoid and maxillary sinuses<sup>25</sup>. The most common were coagulase-negative staphylococci (31–56% of isolates), *Hemophilus influenzae* (25%), *Staphylococcus aureus* (20–39%), *Streptococcus pneumoniae* (9–17%)<sup>1,26</sup>. Although it is often hypothesized that CRS evolves from acute rhinosinusitis, this has never been proven. Furthermore, the role of bacteria in CRS is far from clear<sup>26,27</sup>. The presence of intracellular *Staphylococcus aureus* in epithelial cells of the nasal and sinus mucosa has been suggested to play a significant risk factor for recurrent episodes of rhinosinusitis due to persistent bacterial clonotypes, which appear to be refractory to antimicrobial and surgical therapy<sup>28,29</sup>. A recent prospective study revealed that colonization of the middle meatus with *Staphylococcus aureus* is significantly more frequent in CRS with nasal polyposis (60.3%), compared to CRS without nasal polyposis (27.3%)<sup>1,30</sup>. *Staphylococcus aureus* enterotoxins (SAEs) are able to induce more severe eosinophilic inflammation as well as the synthesis of a multiclonal IgE response with high total IgE concentrations in the tissue, which would suggest that SAEs are at least modifiers of disease in CRS with nasal polyps<sup>1,30</sup>. Min et al.<sup>31</sup> have shown that SAEs have a ciliostatic effect on the sinus mucosa. Histopathologic findings, induced by SAEs, included severe submucosal edema, epithelial disruption, and inflammatory cells infiltration (predominantly neutrophils)<sup>31</sup>.

#### *Helicobacter pylori* and laryngopharyngeal reflux

*Helicobacter pylori* DNA has been detected in between 11 and 33% of sinus samples from the patients with CRS, but not from the controls. However, this does not prove a causal relationship<sup>1,32</sup>.

#### Conclusions

Chronic rhinosinusitis is a multifactorial problem involving numerous host and non-host factors. The roles of factors such as allergy, fungal infection and bacterial enterotoxins warrant further study. It is clear that these factors must be taken into account in the diagnosis and long-term management of CRS.

#### R E F E R E N C E S

1. Fokkens W, Lund V, Mullol J; European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps group. European position paper on rhinosinusitis and nasal polyps 2007. *Rhinology* 2007; 45(Suppl 20): 1–136.
2. Bonfils P, Halimi P, Le Bihan C, Norès JM, Avan P, Landais P. Correlation between nasosinus symptoms and topographic diagnosis in chronic rhinosinusitis. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2005; 114(1 Pt 1): 74–83.

3. *Van Cauwenberge P, Watelet JB.* Epidemiology of chronic rhinosinusitis. *Thorax* 2000; 55 Suppl 2: S20–1.
4. *Kennedy DW.* Pathogenesis of chronic rhinosinusitis. *Ann Otol Rhinol Laryngol Suppl* 2004; 193: 6–9.
5. *Zinreich SJ, Mattox DE, Kennedy DW, Chisholm HL, Diffley DM, Rosenbaum AE.* Concha bullosa: CT evaluation. *J Comput Assist Tomogr* 1988; 12(5): 778–84.
6. *Stammberger H, Wolf G.* Headaches and sinus disease: the endoscopic approach. *Ann Otol Rhinol Laryngol Suppl* 1988; 134: 3–23.
7. *Bhattacharyya N.* Do maxillary sinus retention cysts reflect obstructive sinus phenomena? *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2000; 126(11): 1369–71.
8. *Hatipoğlu HG, Cetin MA, Yüksel E.* Concha bullosa types: their relationship with sinusitis, ostiomeatal and frontal recess disease. *Diagn Interv Radiol* 2005; 11(3): 145–9.
9. *Stallman JS, Lobo JN, Som PM.* The incidence of concha bullosa and its relationship to nasal septal deviation and paranasal sinus disease. *AJNR Am J Neuroradiol* 2004; 25(9): 1613–8.
10. *Kim HJ, Jung Cho M, Lee JW, Tae Kim Y, Kabng H, Sung Kim H, et al.* The relationship between anatomic variations of paranasal sinuses and chronic sinusitis in children. *Acta Otolaryngol* 2006; 126(10): 1067–72.
11. *Berçin AS, Ural A, Kutluban A, Yurttaş V.* Relationship between sinusitis and adenoid size in pediatric age group. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2007; 116(7): 550–3.
12. *Raman V, Clary R, Siegrist KL, Zehnauer B, Chatila TA.* Increased prevalence of mutations in the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator in children with chronic rhinosinusitis. *Pediatrics* 2002; 109(1): E13.
13. *Southern KW.* Cystic fibrosis and formes frustes of CFTR-related disease. *Respiration* 2007; 74(3): 241–51.
14. *Chen B, Antunes MB, Claire SE, Palmer JN, Chiu AG, Kennedy DW, et al.* Reversal of chronic rhinosinusitis-associated sinonasal ciliary dysfunction. *Am J Rhinol* 2007; 21(3): 346–53.
15. *Lee HM, Kim DH, Kim JM, Lee SH, Hwang SJ.* MUC8 mucin gene up-regulation in chronic rhinosinusitis. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2004; 113(8): 662–6.
16. *Kinney WC, Benninger MS.* Assessment of quality of life among patients with sinonasal disease as determined by an Internet survey based on the Rhinosinusitis Disability Index. *Ear Nose Throat J* 2007; 86(8): 482, 484–6.
17. *Kim JE, Kountakis SE.* The prevalence of Samter's triad in patients undergoing functional endoscopic sinus surgery. *Ear Nose Throat J* 2007; 86(7): 396–9.
18. *Gosepath J, Hoffmann F, Schäfer D, Amedee RG, Mann WJ.* Aspirin intolerance in patients with chronic sinusitis. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec* 1999; 61(3): 146–50.
19. *Seybt MW, McMains KC, Kountakis SE.* The prevalence and effect of asthma on adults with chronic rhinosinusitis. *Ear Nose Throat J* 2007; 86(7): 409–11.
20. *Tosun F, Hidir Y, Saracli MA, Caliskaner Z, Sengul A.* Intranasal fungi and chronic rhinosinusitis: what is the relationship? *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2007; 116(6): 425–9.
21. *Hamilos DL, Lund VJ.* Etiology of chronic rhinosinusitis: the role of fungus. *Ann Otol Rhinol Laryngol Suppl* 2004; 193: 27–31.
22. *Dennis DP.* Chronic sinusitis: defective T-cells responding to superantigens, treated by reduction of fungi in the nose and air. *Arch Environ Health* 2003; 58(7): 433–41.
23. *Aydil U, Kalkanci A, Ceylan A, Berk E, Kuştürmür S, Uslu S.* Investigation of fungi in massive nasal polyps: microscopy, culture, polymerase-chain reaction, and serology. *Am J Rhinol* 2007; 21(4): 417–22.
24. *Kim YK, Uno M, Hamilos DL, Beck L, Bochner B, Schleimer R, et al.* Immunolocalization of CD34 in nasal polyposis. Effect of topical corticosteroids. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1999; 20(3): 388–97.
25. *Orlandi RR.* Biopsy and specimen collection in chronic rhinosinusitis. *Ann Otol Rhinol Laryngol Suppl* 2004; 193: 24–6.
26. *Chan J, Hadley J.* The microbiology of chronic rhinosinusitis: results of a community surveillance study. *Ear Nose Throat J* 2001; 80(3): 143–5.
27. *Klossek JM, Dubreuil L, Richet H, Richet B, Beutner P.* Bacteriology of chronic purulent secretions in chronic rhinosinusitis. *J Laryngol Otol* 1998; 112(12): 1162–6.
28. *Palmer J.* Bacterial biofilms in chronic rhinosinusitis. *Ann Otol Rhinol Laryngol Suppl* 2006; 196: 35–9.
29. *Desrosiers M, Myntti M, James G.* Methods for removing bacterial biofilms: in vitro study using clinical chronic rhinosinusitis specimens. *Am J Rhinol* 2007; 21(5): 527–32.
30. *Sachse F, von Eiff C, Becker K, Steinhoff M, Rudack C.* Proinflammatory impact of *Staphylococcus epidermidis* on the nasal epithelium quantified by IL-8 and GRO-alpha responses in primary human nasal epithelial cells. *Int Arch Allergy Immunol* 2008; 145(1): 24–32.
31. *Min YG, Oh SJ, Won TB, Kim YM, Shim WS, Rhee CS, et al.* Effects of staphylococcal enterotoxin on ciliary activity and histology of the sinus mucosa. *Acta Otolaryngol* 2006; 126(9): 941–7.
32. *Dinis PB, Martins ML, Subtil J.* Does *Helicobacter pylori* play a role in upper respiratory tract inflammation? A case report. *Ear Nose Throat J* 2005; 84(4): 238–40.

The paper was received on February 5, 2008.



## Diseminovana nekroza potkožnog masnog tkiva i artritis oba lakatna zgloba kao komplikacija pankreatitisa

Disseminated subcutaneous fat necrosis and elbow joint arthritis as a complication of pancreatitis

Radoje Čolović\*, Nikica Grubor\*, Vladimir Radak\*, Nataša Čolović†,  
Vitomir Ranković\*, Stojan Latinčić\*, Slavko Matić\*

Klinički centar Srbije, \*Institut za bolesti digestivnog sistema,

†Institut za hematologiju, Beograd

### Apstrakt

**Uvod.** Intraabdominalna, naročito peripankreasna nekroza masnog tkiva retroperitoneuma, mezenterijuma i omentuma jedna je od najčešćih komplikacija pankreatitisa. Uz te nekroze u toku akutnog ili hroničnog pankreatitisa mogu se javiti i lokalizovana nekroza potkožnog masnog tkiva, poliartritis, nekrotične koštane lezije, poliserozitis, vaskulitis, supkutani noduli i eozinofilija. Multipla lokalizovana nekroza potkožnog masnog tkiva, pre svega oko velikih zglobova, sama ili udružena sa aseptičnim gnojnim artritisom velikih zglobova ekstremiteta retka je manifestacija oboljenja pankreasa, nazvana „sindrom pankreasne bolesti“ (*pancreatic disease syndrome*). **Prikaz bolesnika.** Prikazana je 43 godine stara bolesnica kod koje su se u sklopu akutnog intersticijalnog bilijarnog pankreatitisa javile ponavljane multiple lokalizovane aseptične nekroze potkožnog masnog tkiva na ekstremitetima, najviše oko skočnih i ručnih zglobova, na dorzalnim stranama šaka i stopala, kao i aseptični gnojni artritis lakatnih zglobova, praćeni febrilnošću tokom skoro četiri nedelje, koji su zahtevali incizije i drenaže, odnosno evakuacionu punkciju zgloba lakta nakon kojih je tokom nekoliko nedelja nastalo postepeno smirivanje simptoma i sanacija zapaljenja. **Zaključak.** Lokalizovanu diseminovanu nekrozu potkožnog masnog tkiva ekstremiteta, najviše oko zglobova i aseptički artritis velikih zglobova, sami ili u sklopu drugih znakova „sindroma pankreasne bolesti“ treba smatrati verovatnim znakom pankreatitisa, čak i u odsustvu težih abdominalnih simptoma oboljenja pankreasa.

### Ključne reči:

pankreatitis; nekroza; žutica; lakatni zglob; artritis; dijagnoza.

### Abstract

**Background.** Intraabdominal fat necrosis of the retroperitoneum, mesentery and omentum is a frequent complication of acute pancreatitis. Very rarely, during the disease multiple aseptic subcutaneous fat necrosis, polyarthritis, polyserositis, vasculitis, subcutaneous noduli and eosinophilia, isolated or in combination, may appear. They are known as "pancreatic disease syndrome". **Case report.** We presented a female patient, 43-year-old, in whom in the course of acute interstitial biliary pancreatitis had occur red multiple localized aseptic necrosis of subcutaneous fat tissue of extremities appeared mostly around the talocrural and wrist joints requiring multiple incision, as well as aseptic elbow joints arthritis requiring puncture of one elbow joint. The symptoms were followed by a prolonged febrility that settled within several weeks. **Conclusion.** Localized disseminated fat necrosis around joints, arthritis of major joints, alone or with some of other symptoms of the "pancreatic disease syndrome" have to be considered as a probable sign of pancreatitis, even in the absence of major abdominal symptoms.

### Key words:

pancreatitis; fat necrosis; jaundice; elbow joint; arthritis; diagnosis.

### Uvod

Intraabdominalna, a naročito peripankreasna nekroza masnog tkiva retroperitoneuma, mezenterijuma i omentuma jedna je od najčešćih komplikacija pankreatitisa. U toku akutnog ili hroničnog pankreatitisa uz te ne-

kreze mogu se javiti i lokalizovane nekroze potkožnog masnog tkiva, zatim poliartritis, nekrotične koštane lezije, poliserozitis, vaskulitis, supkutani noduli i eozinofilija. Udruženost pojedinih ili svih navedenih pojava naziva se „sindrom pankreasne bolesti“ (*pancreatic disease syndrome*) koji može nastati ne samo kod pankreatitisa

već i kod karcinoma pankreasa, traume pankreasa i pankreatikolitijaze<sup>1-7</sup>.

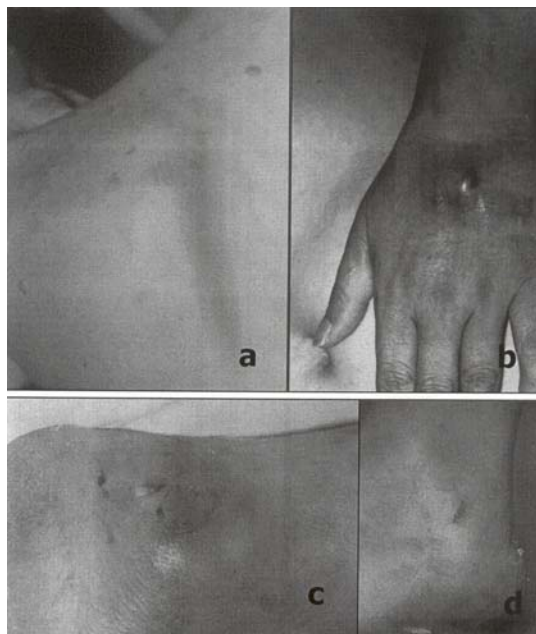
Prikazujemo bolesnicu sa izuzetno retkom multiplom diseminovanom aseptičnom masnom nekrozom potkožnog masnog tkiva ekstremiteta i aseptičnim artritismom oba lakatna zgloba koji su se javili u toku akutnog bilijarnog pankreatitisa.

### Prikaz bolesnika

Bolesnica, stara 43 godine, upućena je u našu ustanovu zbog visoke temperature (do 39 °C), malaksalosti i gubitka telesne mase, posle dve operacije u regionalnoj bolnici i više incizija gnojnih promena na koži. Godinu dana ranije prvi put je imala napade bolova pod desnim rebarnim lukom sa propagacijom ka desnoj lopatici. Dokazana joj je kalkuloza žučne kesice i predložena operacija koju nije prihvatila. Poslednja tri meseca tegobe su se javljale 2–3 puta nedeljno, te je prihvatila predloženu operaciju. Holecistektomija je izvedena bez peroperativne holangiografije. Posle 25 dana bolesnica je požutela. Ispitivanjem na infektivnom odeljenju isključena je infektivna etiologija žutice, te je bolesnica vraće-

koži koje su već opisivane. Najveći broj promena bio je lokalizovan oko skočnih i ručnih zglobova. U narednim danima promene su pokazivale znake fluktuacije, zbog čega je urađeno više incizija koje su nakon sanacije postojale hiperpigmentisane. Bakteriološkim pregledom gnojnog materijala bakterije nisu izolovane. Leukociti su bili povećani do  $14 \times 10^9/l$ . Bolesnica je upućena u našu ustanovu zbog sumnje na rest-kalkulozu holedohusa i sepsu.

Pri prijemu bolesnica je odavala utisak težeg bolesnika; bila je blago ikterična – ukupni bilirubin bio je do 18,0  $\mu\text{mol/l}$ , direktni bilirubin 13,8  $\mu\text{mol/l}$ , a alkalna fosfataza 376 IJ/l (normalne vrednosti 8–76 IJ/l). Postojala je blaga anemija, leukociti su bili u granicama normalnih vrednosti, a sedimentacija ubrzana: 95. Ultrasonografskim pregledom abdomena vizualizovan je blago uvećan pankreas, holedohus promera do 10 mm, ali bez sigurnih znakova holedoholitijaze. Dermatolog koji je konsultovan postavio je sumnju na nodozni eritem. U daljem toku bolesnica je bila svakodnevno febrilna, do 38,6 °C, jednom čak 39,4 °C uprkos terapiji sa dva antibiotika (Tolycar  $2 \times 2 \text{ g}$  i Amikacin  $2 \times 500 \text{ mg}$ ). Šestog dana po prijemu urađeno je nekoliko incizija promena oko skočnih i ručnih zglobova (slika 1), kao i predela desnog



Sl. 1 – Diseminovana potkožna masna nekroza (a), incidirane potkožne masne nekroze na dorzalnoj strani šake (b), na kolenu (c) i skočnom zglobu (d).

na na odeljenje hirurgije gde su se pored žutice ukoro počele javljati lokalizovane promene – crvenilo, otok, a uskoro i fluktuacija na koži obe potkolenice. U laboratorijskim nalazima, pored povećanih vrednosti bioirubina do 140  $\mu\text{mol/l}$ , bile su povećane i amilaze, u krvi 1 400 IJ/l, a u urinu 1 200 IJ/l. Pod sumnjom na holedoholitijazu koja je dovela do bilijarnog pankreatitisa bolesnica je ponovo operisana kada je iz holedohusa odstranjeno nekoliko sitnih konkremenata. U postoperativnom toku koji je bio hirurški uredan, T dren je odstranjen posle 14 dana, ali je bolesnica uprkos antibiotici- ma bila povremeno febrilna, dok su se na potkolenicama, a uskoro i na podlakticama i dalje javljale nove promene po

lakta i iz svake promene evakuisano je po nekoliko mililitara gnoja i nekrotične masti iz potkožnog tkiva. Incizije novih promena morale su biti rađene još dva puta. U svim slučajevima kultura gnoja ostajala je sterilna. Bolesnica je bila febrilna 27 dana, ali sa tendencijom postepenog pada temperature. Krajem juna javili su se bolovi u oba lakatna zgloba koji su bili crveni, topli, natečeni i bolno osetljivi, naročito pri pokretu. Konsultant je reumatolog koji je postavio sumnju na nodozni eritem i utvrdio artritise lakatnih zglobova. Punkcijom desnog lakatnog zgloba dobijen je gust gnojni sadržaj koji je nakon kultivacije ostao sterilan. Inače, zbog sumnjive rezidualne kalkuloze holedohusa ra-

đena je endoskopska retrogradna holangiopankreatografija (ERCP) u dva navrata i nijednom nije dokazana holedoholitijaza, iako su u terminalnom delu holedohusa videne nepravilnosti koje su dovedene u vezu sa ranijom operacijom. Endoskopista je savetovao ponovni ERCP pregled posle mesec dana ukoliko se bilirubin ne normalizuje i ukoliko se promene na koži ne smire.

Opšte stanje bolesnice ipak se postepeno poboljšavalo, febrilnost je iščezavala, bilirubin se normalizovao, a promene po koži javljale su se sve ređe, tako da je potreba za incizijama bivala sve ređa. Učinjene incizione rane zarastale su sa malim lokalnim edemom i hiperpigmentacijom, bolovi u lakatnim zglobovima smirili su se, otok se povukao i obim pokreta se vratio u normalne granice tako da je bolesnica 45. dana nakon prijema u bolnicu bila otpuštena. Od tada je bez tegoba i bez znakova recidiva bolesti. Zaostali su ožiljci i blaga hiperpigmentacija na mestima incizije, uglavnom oko ručnih i skočnih zglobova.

### Diskusija

Izolovana supkutana, aseptična masna nekroza, najčešće na koži ekstremiteta i oko velikih zglobova u toku pankreatitisa retka je i češće se javlja sa drugim simptomima „sindroma pankreasne bolesti“ nego izolovano. Aseptični poliartritis velikih zglobova prevashodno na ekstremitetima još je

ređi. Od 1970. godine opisano je oko 70 bolesnika sa manifestacijama „pankreasnog sindroma“. Opisano je oko 25 izolovanih promena u potkožnom masnom tkivu, 15 na zglobovima, oko 10 masnih nekroza u koštanoj srži i oko 25 kombinovanih promena.

Lokalizovane masne nekroze potkožnog masnog tkiva mogu biti ne samo komplikacija pankreatitisa već mogu prethoditi kliničkom ispoljavanju pankreatitisa<sup>8,9</sup>. Obično ih prate simptomi zapaljenja kao kod naše bolesnice, ali mogu biti čak i asimptomatske<sup>10-12</sup>.

Masne nekroze smatraju se efektom cirkulišućih pankreasnih enzima, a pre svega lipaze, što drugi autori poriču<sup>11,13,14</sup>. Iako je logično da se smatraju efektom cirkulišućih pankreasnih enzima, ostaje nejasno zašto u svim slučajevima u kojima su vrednosti tih enzima u krvi bile visoke ne dolazi do toga, kao i koji faktori iniciraju ekstravazaciju enzima u zoni udaljenih nekroza<sup>14</sup>.

### Zaključak

Kod pojave aseptičkih supkutanih masnih nekroza, naročito ako su lokalizovane oko velikih zglobova ekstremiteta, a posebno kad su udružene i sa aseptičkim gnojnim poliartritisom velikih zglobova ekstremiteta treba posumnjati na oboljenje pankreasa, pre svega na pankreatitis, čak i u odsustvu izraženih abdominalnih bolova.

### L I T E R A T U R A

- Gibson TJ, Schumacher HR, Pascual E, Brighton C. Arthropathy, skin and bone lesions in pancreatic disease. *J Rheumatol* 1975; 2(1): 7-13.
- Potts DE, Mass MF, Iseman MD. Syndrome and pancreatic disease, subcutaneous fat necrosis and polyserositis. Case report and review of literature. *Am J Med.* 1975 Mar; 58(3):417-23.
- Belsky H, Cornell NW. Disseminated focal fat necrosis following radical pancreatico-duodenectomy for acinous carcinoma of head of pancreas. *Ann Surg* 1955; 141(4): 556-62.
- Mullin GT, Caperton EM Jr, Crespin SR, Williams RC Jr. Arthritis and skin lesions resembling erythema nodosum in pancreatic disease. *Ann Intern Med* 1968; 68(1): 75-87.
- Tannenbaum H, Anderson LG, Schur PH. Association of polyarthritisa, subcutaneous nodules, and pancreatic disease. *J Rheumatol* 1975; 2(1): 15-20.
- Lee SH, Bodensteiner D, Eisman S, Dixon AY, McGregor DH. Chronic relapsing pancreatitis with pseudocyst erosion into the portal vein and disseminated fat necrosis. *Am J Gastroenterol* 1985; 80(6): 452-8.
- Nizze H, Hempel A, Paech R. Pancreatic pseudocyst with vena cava erosion, necrotizing panniculitis and polyarthropathy. *Pathologie* 1986; 7(6): 348-52. (German)
- Dahl PR, Su WP, Cullimore KC, Dicken CH. Pancreatic panniculitis. *J Am Acad Dermatol* 1995; 33(3): 413-7.
- Francombe J, Kingsnorth AN, Tunn E. Panniculitis, arthritis and pancreatitis. *Br J Rheumatol* 1995; 34(7): 680-3.
- Carasso S, Oren I, Alroy G, Krivoy N. Disseminated fat necrosis with asymptomatic pancreatitis: a case report and review of the literature. *Am J Med Sci* 2000; 319(1): 68-72.
- Berman B, Contas C, Smith B, Leong S, Hornbeck L 3rd. Fatal pancreatitis presenting with subcutaneous fat necrosis. Evidence that lipase and amylase alone do not induce lipocyte necrosis. *J Am Acad Dermatol* 1987; 17(2 Pt 2): 359-64.
- Boswell SH, Baylin GJ. Metastatic fat necrosis and lytic bone lesions in a patient with painless acute pancreatitis. *Radiology* 1973; 106(1): 85-6.
- Dhawan SS, Jimenez-Acosta F, Poppiti RJ Jr, Barkin JS. Subcutaneous fat necrosis associated with pancreatitis: histochemical and electron microscopic findings. *Am J Gastroenterol* 1990; 85(8): 1025-8.

Rad je primljen 5. V 2008.





## Akutni abdomen kod bolesnice sa Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauserovim sindromom

### Acute abdomen in a patient with Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser syndrome

Aleksandra Petrić, Milan Stefanović, Predrag Vukomanović,  
Radomir Živadinović, Aleksandra Tubić, Zoran Janjić

Klinički centar, Ginekološko-akušerska klinika, Niš

#### Apstrakt

**Uvod.** Sindrom Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser (MRKH) predstavlja malformaciju ženskog genitalnog trakta (incidenca 1 na 4 000 ženskih novorođenčadi). Sindrom nastaje kao rezultat poremećaja razvoja Milerovih kanala. Etiologija je nepoznata. Sindrom MRKH je najčešći razlog primarne amenoreje (90%). Bolesnica sa MRKH sindromom ima normalan ženski fenotip, sa normalnom pubarhom i telarhom i ženski kariotip (46XX) praćen primarnom amenorejom. Ove bolesnice nemaju formiran funkcionalni uterus, cerviks i vaginu, često imaju razvijene jajovode, a u visokom procentu imaju i normalno razvijene ovarijume. Hormonski status odgovara zdravoj ženskoj osobi, a moguća je i pojava tumora ovarijuma i tumora na rudimentnim delovima uterusa. **Prikaz bolesnika.** U radu je prikazana bolesnica sa akutnim abdomenom i prethodno nedijagnostikovanim MRKH. Dijagnoza je postavljena u toku operativnog zahvata. Malu karlicu i deo abdomena ispunjavala je torkvirana tumorska masa, pri čemu pažljivom eksploracijom nisu uočeni jajnici, jajovodi, uterus ili nešto što bi moglo ličiti na rudiment uterusa. Kod bolesnice je potvrđeno i prisustvo kratke vagine koja se slepo završava. Urađena je tumorektomija i patohistološki nalaz je pokazao da se radi o vaskularnom leiomiomu. **Zaključak.** Dijagnoza kompleksnih sindroma kao što je MRKH može uprkos savremenoj dijagnostici izostati iz nemedicinskih, psihosocijalnih razloga. Kod ovih bolesnica možemo očekivati ovarijalnu i uterinu patologiju na hipoplastičnim strukturama kao i kod zdrave žene. Kod ove bolesnice potvrđen je vaskularni leiomiom.

#### Ključne reči:

anomalije, multiple; milerovi kanali; sindrom; hirurgija, ginekološka, procedure; leiomiom; lečenje, ishod.

#### Abstract

**Background.** Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser (MRKH) syndrome is a malformation of female genital tract (incidence 1 in 4000 female newborn children). It appears as a result of a disorder in the development of Mullerian canals. Etiology is unknown. Syndrome MRKH is the most frequent cause of primary amenorrhoea (90%). Patients with MRKH have a normal female phenotype, with normal pubic hairness and thelarche, and female karyotype (46XX) followed by primary amenorrhoea. Hormonal status corresponds to healthy women, where the appearance of ovarian tumors and tumors on rudiment parts of uterus is possible. **Case report.** We presented a case of acute abdomen in a patient with previously not diagnosed MRKH. The diagnosis was done during the operation. Small pelvis and an abdominal part were filled with torquated tumor lump, where ovaries, oviducts, uterus or something resembling rudiment of uterus were not recognized through careful examination. Furthermore, the patient had a short, dead-end vagina. Tumorectomy was done and hystopathological finding showed the presence of vascular leiomyoma. **Conclusion.** The diagnosis of complex syndromes, such as MRKH, can, despite modern diagnostics, be absent for non-medical and psycho-social reasons. We can expect ovarian and uterine pathology on hypoplastic structures in these patients, as well as in healthy women. Vascular leiomyoma in the patients with MRKH was not found in the available literature.

#### Key words:

anomalies, multiple; mullerian ducts; syndrome; gynecologic surgical procedures; leiomyoma; treatment outcome.

#### Uvod

Sindrom Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser (MRKH) predstavlja malformaciju ženskog genitalnog trakta (incidenca 1 na 4 000 novorođenčadi ženskog pola)<sup>1</sup>. Sindrom se razvija tokom embriogeneze, između četvrte i dvanaeste ne-

delje trudnoće i nastaje kao rezultat poremećaja razvoja Milerovih kanala. Etiologija je nepoznata. Sindrom MRKH najčešći je razlog primarne amenoreje (90%)<sup>1</sup>.

Prema rezultatima kliničkih i ostalih dijagnostičkih procedura, ovaj sindrom obuhvata tri podtipa: tipični, atipični i podtip sa kombinovanom aplazijom Milerovih

kanala, renalnom aplazijom i aplazijom cervikalnih somita<sup>2</sup>.

Bolesnica sa MRKH ima normalan ženski fenotip, sa normalnom pubarhom i telarhom i ženski kariotip (46XX) praćen primarnom amenorejom. Klasični ginekološki nalaz podrazumeva: rudimentirani septirani uterus, aplaziju cerviksa i vagine i normalna ili hipoplastična adneksa i sreće se kod oko 47% opisanih slučajeva<sup>2</sup>. Prema tome, MRKH sindrom tretira se kao primarno genitalna malformacija, a mnogo ređe, kod 32% slučajeva, kao kompleksan sindrom u kome učestvuju malformacije drugih grupa organa<sup>2</sup>.

Najčešće su ovarijumi anatomski i funkcionalno normalni, te su moguća oboljenja zavisna od estrogena kao endometriozna, a opisani su slučajevi i ovarijalnih neoplazmi<sup>1,3</sup>.

### Prikaz bolesnika

Bolesnica, stara 53 godine, domaćica, 22 godine u braku, bez dece, iz ruralnog područja jugoistočne Srbije, upućena je u bolnicu sa znacima teškog opšteg stanja, šoka, bez merljivog pritiska, sa plasiranom venskom kanilom i infuzijom dopamina.

Heteroanamnestički podaci dobijeni su od supruga, zbog izuzetno teškog stanja bolesnice pri prijemu. Tegobe su postojale unazad pet meseci u vidu bolova i uvećanja trbuha. Poslednja tri dana bili su izraženi jaki bolovi, povraćanje i malaksalost. Lična anamneza bila je uredna osim preležanog hepatitisa B u 22. godini života, nakon kojeg je bolesnica Hbs pozitivna. Podaci o menstrualnom ciklusu u momentu prijema nisu bili poznati, a bolesnica je, navodno, lečila sterilitet.

Prilikom prijema u teškom opštem stanju, bolesnica je bila svesna i somnolentna. Koža je bila bledosive boje i orošena hladnim znojem. Trbuh je bio iznad ravni grudnog koša, sa izraženim defansom (slika 1). Bolesnica je imala dobro razvijene sekundarne seksualne karakteristike (dojke i pubičnu dlakavost ženskog tipa). Ultrazvuk abdomena pokazao je prisustvo tumefakta koji je ispunjavao malu i veliku karlicu i čitav abdomen sve do rebarnih lukova. Krvni pritisak je bio nemerljiv, a puls filiforman.



Sl. 1 – Bolesnica na operacionom stolu

Odmah nakon prijema bolesnica je prevedena na Odeljenje intenzivne nege gde je započeta reanimacija i laborato-

rijska obrada. Laboratorijske analize prilikom prijema bile su u referentnim granicama izuzev glikemije, ukupnih proteina, laktat dehidrogenaze (LDH), nivoa C-reaktivnog proteina (CRP) i nivoa belih krvnih zrnaca (glikemija 8,7 mmol/l, urea 14 mmol/l, kreatinin 195,1 μmol/l, bilirubin 9,1 μmol/l, dir. bilirubin 1,5 μmol/l, proteini 57 g/l, albumini 34,3 g/l, LDH 754 IU/l, γ GT 8,0 IU/l, Na<sup>+</sup> 137 mmol/l, K<sup>+</sup> 5,4 mmol, Ca<sup>++</sup> 2,19 mmol/l, Cl<sup>-</sup> 105 mmol/l, CRP 25,6 mg/l; kompletna krvna slika: leukociti 15,9 × 10<sup>9</sup>/l, granulociti 12,8 × 10<sup>9</sup>/l, eritrociti 3,35 × 10<sup>12</sup>/l, trombociti 375 × 10<sup>9</sup>/l).

Nakon kratke i intenzivne reanimacije, kod bolesnice učinjena je laparotomija niskim uzdužnim rezom koji je proširen levo paraumbilikusno.

Operativni nalaz pokazao je solidan tumefakt koji je ispunjavao malu i veliku karlicu i čitav abdomen sve do dijafragme. Tumefakt je bio višestruko torkviran, glatke površine i lividan (slike 2 i 3). U trbuhu je bilo prisutno

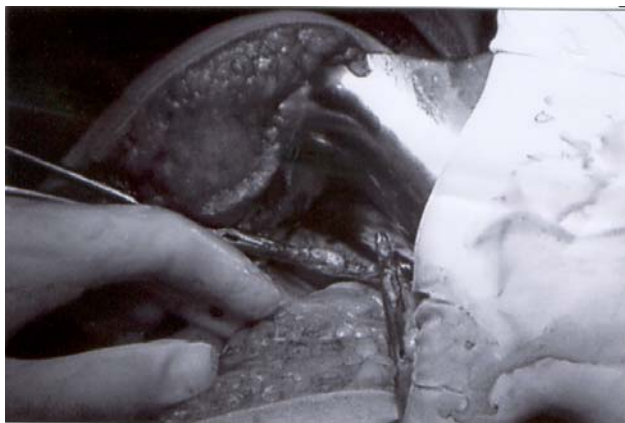


Sl. 2 – Torkvirani tumor



Sl. 3 – Tumor i peteljka

oko 500 ml serohemoragične tečnosti. Nakon tumorektomije, pažljivom eksploracijom male karlice nisu se uočavali jajnici, jajovodi ili rudiment uterusa (slika 4). Nije se moglo utvrditi poreklo tumora, urađena je i parcijalna omentektomija. Nakon pažljive pretrage male karlice i abdomena postavljen je kontrolni dren u Douglasov prostor i trbušni zid je zatvoren po slojevima. Ginekološkim pregledom utvrđeno je postojanje kratke vagine (2 cm) koja se slepo završava (slika 5).



Sl. 4 – Operativno polje nakon tumorektomije



Sl. 5 – Kratka, slepa vagina

Laboratorijske analize nakon operacije pokazale su stabilizaciju bioluminalnog satusa bolesnice: glikemija 4,7 mmol/l, urea 4,5 mmol/l, kreatinin 49,3  $\mu$ mol/l, ukupni proteini 68 g/l,  $\text{Na}^+$  140 mmol/l,  $\text{K}^+$  5,4 mmol,  $\text{Ca}^{++}$  2,33 mmol/l, Cl 101 mmol/l, CRP 10,6 mg/l; kompletna krvna slika: leukociti  $10,0 \times 10^9/l$ , eritrociti  $4,28 \times 10^9/l$ , trombociti  $375 \times 10^9/l$ .

Postoperativni tok protekao je uredno. Pasaža je kompletno uspostavljena četvrtog postoperativnog dana, rana je zarasla *per primam*. Nakon operacije, u toku oporavka bolesnica je dala podatke o urednom menstrualnom ciklusu i zadovoljavajućem seksualnom životu, što nas je uputilo na činjenicu da je ona svoje stanje svesno prikrivala. Bolesnica je otpuštena desetog postoperativnog dana. Nikada se nije javila na zakazanu kontrolu.

U toku hospitalizacije urađen je kariogram koji je pokazao normalni 46 XX kariotip. Hormonski status bio je: folikulstimulišući hormon (FSH) 30 IU/l, luteinizirajući hormon (LH) 26 IU/l; estradiol 69 pg/ml; progesteron 1,3 ng/ml; testosteron 0,27 ng/dl. Normalan hormonski status ukazao je na postojanje neprimičenog, verovatno ektopičnog, jajnika koji

nije identifikovan u parcijalno resektovanom omentumu, niti u tumorskoj masi.

Patohistološki nalaz: *Leiomyoma vasculare permagnum cum haemorrhagio recens*. U omentumu nije bilo znakova tumorskog procesa.

### Diskusija

Dijagnoza MRKH sindroma najčešće se postavlja kada, nakon normalnog razvoja sekundarnih seksualnih karakteristika, ne dođe do pojave menarhe. Dijagnoza se postavlja relativno brzo i lako korišćenjem ultrazvučne dijagnostike, magnetne rezonancije ili nakon dijagnostičke laparoskopije. Ove bolesnice imaju normalan kariotip, normalan fenotip ženske osobe i javljaju se ginekologu zbog primarne amenoreje ili, ređe, zbog seksualne disfunkcije.

Uprkos činjenici da MRKH sindrom nije redak (1 na 4 000 živorođene ženske dece), određen broj bolesnica ostaje nedijagnostikovani<sup>1</sup>. Razlozi su različiti: socijalni, psihološki i ekonomski.

Kod naše bolesnice sindrom MRKH dijagnostikovano je na operacionom stolu, u stanju akutnog abdomena, u 53. godini života, nakon 22 godine bračnog života. Akutni abdomen nastao je kao posledica torzije leiomioma. Bolesnica nikada nije medicinski ispitivana. Korene ove situacije možemo tražiti u psihološkim i nemedicinskim razlozima.

Podaci iz literature ukazuju da je kod bolesnica sa ovim sindromom moguća i ovarijalna i uterina patologija, pa čak i ponovna pojava pojedinih tumora<sup>1-5</sup>.

Naša bolesnica spada u grupu onih koje imaju i dodatne abnormalnosti, tj. kod nje je konstatovano bilateralno odsustvo adneksa. Odsustvo jajnika i jajovoda možemo okarakterisati kao pridruženu anomaliju. U literaturi su opisani slučajevi postojanja ektopičnog ovarijuma u omentumu i tumora na ektopičnom jajniku. U parcijalno resektovanom omentumu kod bolesnice nisu nađeni elementi ektopičnog ovarijuma ili tumorski proces. Hormonski status bolesnice, takođe, odgovara njenom životnom dobu i nije bilo značajnijih odstupanja u odnosu na referentne vrednosti, te se ne isključuje mogućnost postojanja ektopičnog jajnika.

Patohistološki nalaz pokazao je da se radi o vaskularnom leiomiomu sa hemoragijama verovatno nastalim zbog torzije istog. Vaskularni leiomiom sadrži brojne velike krvne sudove sa izraženim mišićnim zidom<sup>6</sup>.

### Zaključak

Torzije fibroida praćene abdominalnim bolom kod bolesnica sa MRKH sindromom nisu retkost. Leiomiom sa izraženom vaskularnom komponentom kod ovih bolesnica nije opisan u nama dostupnoj literaturi.

## L I T E R A T U R A

1. *Jadoul P, Pirard C, Squifflet J, Smets M, Donnez J.* Pelvic mass in a woman with Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser syndrome. *Fertil Steril* 2004; 81(1): 203–4.
2. *Oppelt P, Renner SP, Kellermann A, Brucker S, Hauser GA, Ludwig KS, et al.* Clinical aspects of Mayer-Rokitansky-Kuester-Hauser syndrome: recommendations for clinical diagnosis and staging. *Hum Reprod* 2006; 21(3): 792–7.
3. *Galajdova L, Verbeke K, Dbont M.* Recurrent multiple leiomyomata in a patient with Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome. *J Obstet Gynaecol* 2003; 23(4): 448–9.
4. *Ito Y, Komori S, Horiuchi I, Kinuta T, Hori M, Wada C, et al.* Solid pelvic tumor in a woman with Mayer-Rokitansky-Küstner-Hauser syndrome. *Arch Gynecol Obstet* 2006; 274(4): 252–4.
5. *Rodríguez E, Pombo F, Alvarez C, Arnal F.* Tumor in ectopic omental ovary in Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome: CT findings. *J Comput Assist Tomogr* 1998; 22(5): 758–9.
6. *Zalovdek C, Noris HJ.* Mesenchymal tumors of the uterus. In: *Kurman RJ*, editor. *Blaustein's pathology of the female genital tract*. 5th ed. New York: Springer-Verlag; 2002. p. 561–616.

Rad je primljen 6. III 2008.



## Vaskularne anomalije želuca kao uzrok recidivirajućih krvarenja

### Vascular gastric anomalies as a cause of relapsing bleeding

Gradimir Golubović\*, Milosav Kiurski†, Vladimir Špica‡, Ratko Tomasević\*,  
Aleksandar Pavlović\*, Nikola Đukić\*

Kliničko-bolnički centar, \*Odeljenje gastroenterologije, †Odeljenje kliničke patologije,  
‡Odeljenje hirurģije, Zemun

#### Apstrakt

**Uvod.** Vaskularne anomalije želuca redak su uzrok gastrointestinalnih krvarenja. Najčešće, u pitanju su ponovljena okultna krvarenja koja prati sideropenijska anemija, dok su masivna krvarenja koja ugrožavaju život bolesnika retka. **Prikaz bolesnika.** U radu je prikazano pet bolesnika sa vaskularnim anomalijama želuca kod kojih je dijagnoza postavljena endoskopskim metodama tokom 2003. godine u Kliničko-bolničkom centru (KBC) Zemun, sa navedenim opisom kliničkih simptoma, histološkom analizom, vrstom terapijskog pristupa i prognozom, uz dodatak podataka iz literature. Dijagnostikovane vaskularne anomalije želuca bile su: portna hipertenzivna gastropatija, gastična antralna vaskularna ektazija (GAVE sindrom), angiodisplazija želuca, hereditarna hemoragična telangiectazija (Rendu-Osler-Weberova bolest) i Dieulafoy lezija. Modaliteti lečenja uključivali su hirurģiju i različite endoskopske procedure (skleroterapija, argon plazma koagulacija). **Zaključak.** Kad kod bolesnika postoji sideropenijska anemija nepoznatog porekla, kao i akutna ili hronična recidivirajuća gastrointestinalna krvarenja treba pomisliti na neku od vaskularnih anomalija želuca kao mogući uzrok.

#### Gljučne reči:

krvarenje, gastrointestinalno; krvni sudovi, malformacije; dijagnoza; lečenje, ishod.

#### Abstract

**Background.** Although relatively rare, gastric vascular anomalies can be recognized as a source of both chronic and acute blood loss, most often presenting as long term iron deficiency anemia, rarely as severe acute gastrointestinal bleeding. **Case report.** We present five patients with various gastric vascular anomalies, diagnosed during the year of 2003. in the Clinical Hospital Center Zemun. The diagnosis was based on endoscopic appearances, clinical history and characteristic histological findings. Gastric vascular anomalies presented in our review were: portal hypertensive gastropathy, gastric antral vascular ectasia, angiodysplasia, hereditary hemorrhagic telangiectasia and Dieulafoy lesion. The used treatment modalities included surgery and various endoscopic techniques (sclerotherapy, argon plasma coagulation). **Conclusion.** Patients presented with chronic iron deficiency anemia or acute and recurrent gastrointestinal hemorrhage should be considered as having one of gastric vascular anomalies.

#### Key words:

gastrointestinal hemorrhage; vascular malformations; diagnosis; treatment outcome.

#### Uvod

Vaskularne anomalije želuca predstavljaju displaziju kapilarne mreže i, prema podacima iz literature, na njih se odnosi samo 0–5% krvarenja iz gornjih delova digestivnog trakta<sup>1</sup>. Najčešće su uzrok okultnih krvarenja i sideropenijske anemije, ali su krvarenja nekad obilnija, recidivirajuća, što uzrokuje nestabilni hemodinamski status bolesnika i zahteva energično zbrinjavanje ovih anomalija. Njihov uzrok su dilatirani, tortuozno izmenjeni krvni sudovi u mukozni i submukozni želuca<sup>2</sup>.

Promene se javljaju na svim delovima želuca, ali su u gornjim partijama češće: portna hipertenzivna gastropatija i Dieulafoy lezija, angiodisplazija u korpusnom segmentu, sindrom GAVE (*Gastric autrol vascular ectasia*) u antralnoj

regiji, dok Rendu-Osler-Weberova bolest daje vaskularno prominentne promene duž čitavog želuca<sup>3</sup>. Vaskularne anomalije, bilo da su pojedinačne ili multiple, leče se endoskopskim, injekcionim, termičkim ili mehaničkim metodama, ali je ponekad neophodna i hirurģska intervencija<sup>4</sup>.

U ovom radu opisani su bolesnici sa različitim vaskularnim anomalijama želuca uključujući i njihovu endoskopsku sliku, histološki nalaz i terapijski pristup tim promenama.

#### Prikaz bolesnika

U toku 2003. godine na Gastroenterološko odeljenje Kliničko-bolničkog centra (KBC) Zemun primljeno je 105 bolesnika sa krvarenjima iz gornjih partija digestivnog trakta.

Kod svih bolesnika u toku prvih 12 sati po prijemu urađena je urgentna gornja endoskopija, kojom su evidentirane i opisane nađene lezije kao i stepen krvarenja, a po potrebi urađene i neke od odgovarajućih interventnih terapijskih mera.

Među ispitivanim bolesnicima 78 (74%) krvarilo je iz erozija ili peptičkog ulkusa, što je bio najčešći uzrok gornjih digestivnih krvarenja, 12 bolesnika sa cirozom jetre (11%) krvarilo je iz varikoziteta vena jednjaka, a kod 10 bolesnika (9%) nije bilo moguće utvrditi uzrok krvarenja endoskopskim pregledom.

Kod pet bolesnika (4%) utvrđene su vaskularne anomalije želuca kao uzrok digestivnih krvarenja iz gornjih partija.

Prvi bolesnik, star 42 godine, poslednjih godinu dana imo je recidive crnih stolica, koje su spontano prestajale posle nekoliko dana. Zbog transfuzija krvi koje je dobijao i visokih vrednosti serumskog gvožđa, ispitivan je na hematološkom odeljenju, a Dieulafoy lezija nađena je tek posle nekoliko endoskopskih pregleda u momentu svežeg krvarenja, kao jasno otvoren, manji krvni sud na upupčenoj prominenciji, prečnika oko 0,5 cm. Ponovljene sklerozacije nisu dovele do uspeha, ali je klips ligatura uspela da zaustavi krvarenje. Posle godinu dana nije bilo recidiva.

Druga bolesnica, stara 62 godine, imala je hepatitis C virus (HCV) pozitivnu cirozu jetre sa varokozitetima II stepena na jednjaku. Zbog prethodnih hematemeza i melena rađena je sklerozacija i ligatura varikoziteta, sa prestankom krvarenja u periodu od godinu dana. Ponovno masivno krvarenje pokazalo je postojanje difuzne eritematozne promene u fundusu želuca, slične izgledu „zmijske kože“, sa svežim erozijama i slivenim plažama krvi (slika 1). Histologija je pokazala dilatirane submukozalne vene i arteriole sa zadebljalim zidom. Ponovljeno je nekoliko sklerozacija sa davanjem antisekretornih lekova i beta-blokatora, što je dovelo do dužeg mirnog perioda bez krvarenja kod ove bolesnice.



**Sl. 1 – Difuzne eritematozne promene u fundusu želuca sa svežim erozijama i slivenim plažama krvi**

Treća bolesnica, stara 58 godina, bila je na hroničnom programu hemodijalize pet godina. Zbog recidiva melena i teške anemije urađen je endoskopski pregled, kojim su viđene promene u antrumu želuca u vidu eritematoznih traka ra-

dijalno raspoređenih ka pilorusu (slika 2), koje su sluznici davale izgled kore od lubenice (*Watermelon* ili GAVE sindroma). Posle termičke kauterizacije koja nije dala očekivani rezultat, bolesnici je urađena antrektomija koja je i predstavljala definitivno terapijsko rešenje.



**Sl. 2 –Promene u antrumu želuca u vidu eritematoznih traka radijalno raspoređenih na pilorusu (GAVE sindrom)**

Četvrti bolesnik, star 74 godine, od rođenja je povremeno krvario iz desni, nosa ili pri iskašljavanju. Poslednje dve godine imao je česte epizode krvarenja iz digestivnog trakta (melena). Dijagnoza Rendu-Osler-Weberove bolesti kod njega postavljena je u najranijem detinjstvu. Zbog velikog broja transfuzija koje je do tada primio (preko 160) imao je hemohromatozu i početnu cirozu jetre. Vaskularne promene imao je na jednjaku, ali najviše na želucu. Bili su izgleda *spider* nevusa i najviše ih je bilo u korpusnom segmentu, bliže velikoj krivini želuca (slika 3). Sklerozacija i argon plazma koagulacija rešile su bolesnika daljih digestivnih komplikacija.



**Sl. 3 – Vaskularne promene u korpusnom segmentu želuca, bliže velikoj krivini**

Peta bolesnica, stara 53 godine, poslednjih šest meseci imala je ponovljena krvarenja iz gornjeg dela digestivnog

trakta u vidu obilnih melena. Endoskopskim pregledom otkrivene su dve telangiektatične promene lokalizovane u korpusnom segmentu želuca (slika 4). Sklerozacija je bila uspešna terapijska procedura.



Sl. 4 – Teleangiektatične promene u korpusnom segmentu želuca

### Diskusija

Vaskularne anomalije želuca redak su uzrok krvarenja iz gornjih partija digestivnog trakta. Najčešće se dijagnostikuju endoskopskim pregledom ili selektivnom angiografijom, a lečenje se sastoji od primene endoskopskih metoda ili hirurških procedura<sup>1</sup>.

Lezije koje su bile uzrok krvarenja kod prvog bolesnika posledica su zadebljanja zida tortuozno izmenjenog krvnog suda, koji protrudira do mukoze, fibrinoidno nekrotiče i krvari. Promene su najčešće na granama desne i leve gastrične arterije, u proksimalnom delu želuca, bliže velikoj krivini, kao i kod našeg bolesnika, a stepen krvarenja zavisi od kalibra zahvaćenog krvnog suda. Dijagnostikuje se kod 1,8% svih gastrointestinalnih krvarenja, od kojih su 15% masivna. Dijagnoza se najčešće postavlja endoskopski (ako je krvarenje vidljivo i uglavnom se vidi kao defekt mukoze veličine 2–5 mm sa protrudiranim krvnim sudom, lociran u prvih 6 cm od gastroezofagusnog spoja, na velikoj krivini želuca), arteriografski (ako je krvarenje aktivno, a endoskopija nije pokazala mesto krvarenja) ili za vreme urgentne laparoskopije (u slučaju masivnijih krvarenja). Endoskopski ultrazvuk može biti korisno sredstvo u potvrđivanju dijagnoze, kao i u proceni efekta endoskopskog tretmana lezije. Terapija najčešće obuhvata različite endoskopske terapijske procedure (injekciona skleroterapija epinefrinom, elektrokoagulacija, BAND ligature itd.), a nekad je neophodno i operativno lečenje. Recidivi su vrlo retki<sup>5</sup>.

Prema podacima iz literature, portna hipertenzivna gastropatija (PHG) obično se javlja kod bolesnika sa cirozom jetre i portnom hipertenzijom, mada se može javiti i kao komplikacija portne hipertenzije kod necirotičnih bolesnika. Rizik od krvarenja u mukozi povećava se posle sklerozacije

vena jednjaka, kao što je bio slučaj kod druge bolesnice<sup>6</sup>. Incidencija PHG raste sa stepenom težine oboljenja jetre, a povezana je i sa prisustvom varikoziteta vena jednjaka i želuca. Endoskopski, lezija se prikazuje kao mozaičan crtež sa malim poligonalnim poljima uokvirenim žučkastim udubljenim arealima, a u histološkom smislu kao povećan broj arteriovenskih anastomoza i dilatiranih vena i kapilara u submukozu. Najbolje je izražena u fundusu, ali je povremeno ima i u korpusu želuca. Ektatični krvni sudovi, mada zadebljalog zida, fragilni su i lako krvare. Patogeneza bolesti je nejasna. Ipak, postoje pretpostavke da bi porast nivoa želudačnog azot monoksida (NO), faktora nekroze tumora alfa (TNF-alfa) i epitelmalnog faktora rasta (EGF), kao i promene u regulaciji nivoa želudačnih prostaglandina i uzimanje nesteroidnih antiinflamacijskih lekova (NSAIL), mogli biti odgovorni za nastanak bolesti. Kod bolesnika sa variksima jednjaka portne hipertenzivne gastropatije se smatraju snažnim prediktorom budućeg variksnog krvarenja. Terapija je usmerena na sniženje portnog pritiska beta-blokatorima ili šantovima (portokavni, splenorenalni šant, transjugularni intrahepatični portnosistemska šant – TIPS). U slučaju nekontrolisane PHG i krvarenja iz variksa radi se ezofagektomija i gastrektomija. Tretman inhibitorima NO, takođe, može da pomogne.

Uzrok mukozno i submukozno proširenih kapilarnih krvnih sudova koji pucaju i krvare jer su površno postavljeni nepoznat je, ali se u literaturi često dovodi u vezu sa autoimunskim bolestima (primarna bilijarna ciroza, autoimuni hepatitis, sklerodermija), sa prolapsom i ishemijom pilorusa, hipergastrinemijom ili hroničnom bubrežnom insuficijencijom (HBI)<sup>7</sup>. Takođe, prestanak krvarenja za vreme menstruacionog ciklusa govori u prilog hormonskog porekla ove pojave<sup>8</sup>. Bolest se uglavnom prezentuje hroničnim gastrointestinalnim gubitkom krvi, sideropenijskom anemijom i zavisnošću od transfuzije i najčešće se javlja kod starijih žena sa udruženom autoimunskom bolešću. Veoma retko, kao u slučaju treće bolesnice, može se javiti i u formi akutnog krvarenja. Endoskopski, GAVE ili *Watermelon* želudac liči na koru od lubenice i javlja se u vidu longitudinalnih nabora koji se pružaju u pravcu pilorusa, a slični su nalazu u PHG. Histološki se karakteriše dilatiranim i tromboziranim kapilarima, kao i fibromuskularnom hiperplazijom *laminae propriae*, što je i odvajanje od sličnog nalaza u PHG i govori u prilog dva različita entiteta<sup>9</sup>. Ako se i javlja u cirozi jetre, GAVE sindrom je zaseban i idiopatski entitet i javlja se kod svega 3% bolesnika sa cirozom. Razlika između GAVE i PHG leži i u činjenici da bolesnici sa PHG uglavnom reaguju na redukciju portnog pritiska i terapiju beta blokatorima, dok oni sa GAVE i koegzistirajućom portnom hipertenzijom generalno ne reaguju na takvu terapiju. Endoskopska laserska fotokoagulacija ili dijatermija pokazale su se vrlo efikasnim u zaustavljanju krvarenja i mogu odložiti antrektomiju, koja predstavlja definitivno terapijsko rešenje. Terapija lekovima, kao što su steroidi, estrogensko-progesteronske kombinacije ili traneksamsinska kiselina (ciklokapron), dala je različite rezultate.

Hereditarna hemoragijska telangiektazija (HHT) ili Rendu-Osler-Weberova bolest, koja je bila uzrok krvarenja kod četvrtog bolesnika je multisistemska, autozomnodo-

minantno nasledna vaskularna displazija, predstavljena prisustvom brojnih arterio-venskih (A-V) malformacija, u kojima, usled nedostatka premošćujućih kapilara između arterija i vena, postoji njihova direktna komunikacija. Male A-V malformacije ili teleangiektazije, blizu površine kože ili mukoznih membrana, često pucaju i krvare, spontano ili posle lake traume. Najčešće kliničke manifestacije su spontane i rekurentna epistaksa (koja se javlja kod 95% bolesnika sa HHT i to kod 90% njih do 21. godine) i multiple telangiektazije, obično prisutne na usnama, licu, jeziku ili rukama, a pojavljuju se u ranom odraslom dobu. Manji broj bolesnika sa HHT ima simptomatsko gastrointestinalno krvarenje, koje se najčešće pojavljuje posle 50. godine. Telangiektazije, ako se i jave u gastrointestinalnom traktu (GIT), uglavnom su lokalizovane na želucu i proksimalnom delu tankog creva. Gastrointestinalno krvarenje je kod 25% bolesnika koji imaju ovaj simptom sporog kliničkog toka, ali je često uporno i može postati uzrok teške anemije. Lečenje simptomatskog gastrointestinalnog krvarenja obuhvata različite endoskopske procedure (tope probe, argon-plazma koagulacija, laser). Hormonska terapija estrogenom i progesteronom, po nekim studijama, pokazala se uspešnom i može smanjiti potrebe za transfuzijom kod ovih bolesnika<sup>10</sup>. U toku su i ispitivanja koja govore u prilog pozitivnog efekta interferona-alfa na tok ove bolesti. Ipak, telangiektazije nosa, kože i GIT obično se ponovo pojavljuju bez obzira na lečenje.

Angiodisplazija (AD), koja je bila uzrok krvarenja kod pete bolesnice, jeste lezija koja se javlja na svim delovima digestivnog trakta, ali je najčešća na terminalnom ileumu i proksimalnom kolonu, gde se i javlja kod 80% svih slučajeva<sup>11</sup>. Želudačna AD predstavlja jednu od redih lokalizacija, uzrokujući 2–5% gornjih digestivnih krvarenja, sa prosečnom starošću bolesnika od preko 60 godina. Etiologija je nepoznata, ali je utvrđeno da se krvareće AD češće javljaju kod bolesnika sa oboljenjem aortne valvule, hroničnim

oboljenjem jetre, Von-Vilebrandovom bolešću, HHT, kao i kod bolesnika sa hroničnom bubrežnom insuficijencijom koja zahteva dijalizno lečenje. Bolesnici obično imaju dugu istoriju ponavljanih, bezbolnih epizoda gastrointestinalnog krvarenja i mnogobrojne prethodne pretrage (povremeno uključujući i laparotomiju), ali bez precizne dijagnoze. Lezije se najčešće dijagnostikuju endoskopskim pregledom gde se prikazuju kao diskretne, zaravnjene ili lako izdignute svetlocrvene promene, često zvezdastog oblika, kao i kod prikazane bolesnice<sup>3</sup>. Mezenterična angiografija identifikuje leziju ukoliko se ona ne može videti endoskopskim putem<sup>12</sup>. Želudačne i duodenumske AD najčešće se tretiraju endoskopskim tehnikama obliteracije (elektrokoagulacija, dijeternija, laserska koagulacija, tope probe). Hirurška resekcija dolazi u obzir ukoliko krvarenje ne prestaje ili se ponavlja i pored opisanih metoda hemostaze; međutim, krvarenje se ponovo javlja kod 50% ovih bolesnika. Kod bolesnika koji nisu kandidati za operaciju, transkateterska embolizacija nakon selektivne kanilacije grana mezenterične arterije pokazala se uspešnom. Terapija estrogeno-progesteronskim preparatima ili konjugovanim estrogenima primenjuje se kod bolesnika sa hroničnim krvarenjima, sa varijabilnim rezultatima.

### Zaključak

Vaskularne anomalije želuca predstavljaju redak uzrok digestivnih krvarenja, a kod prikazanih bolesnika bile su zastupljene sa 5% svih želudačnih krvarenja. Dijagnostikuju se najčešće endoskopskim pregledom ili selektivnom angiografijom, da je lečen endoskopskim ili hirurško metodama.

Kada su u pitanju akutna ili recidivirajuća krvarenja iz gornjih partija GIT ili hronične sideropenijske anemije nepoznatog porekla, treba pomisliti na neku od vaskularnih anomalija želuca kao mogući uzrok krvarenja.

### L I T E R A T U R A

1. *Pulanić R.* Gastrointestinal bleeding. In: *Vucelić B*, editor. Gastroenterology and hepatology. Zagreb: Medicinska naklada; 2002. p. 190–224. (Croatian)
2. *Simoens M, Rutgeerts P.* Non-variceal upper gastrointestinal bleeding. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2001; 15(1): 121–33.
3. *Gordon FH, Watkinson A, Hodgson H.* Vascular malformations of the gastrointestinal tract. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2001; 15(1): 41–58.
4. *Simoens M, Gevers AM, Rutgeerts P.* Endoscopic therapy for upper gastrointestinal hemorrhage: a state of the art. *Hepato-gastroenterology* 1999; 46(26): 737–45.
5. *Veldhuyzen van Zanten SJ, Bartelsman JF, Schipper ME, Tytgat GN.* Recurrent massive haematemesis from Dieulafoy vascular malformations – a review of 101 cases. *Gut* 1986; 27(2): 213–22.
6. *Gostout CJ, Viggiano TR, Balm RK.* Acute gastrointestinal bleeding from portal hypertensive gastropathy: prevalence and clinical features. *Am J Gastroenterol* 1993; 88(12): 2030–3.
7. *Gretz JE, Achem SR.* The watermelon stomach: clinical presentation, diagnosis, and treatment. *Am J Gastroenterol* 1998; 93(6): 890–5.
8. *Mass SF, Ghosh P, Thomas DM, Jackson JE, Calam J.* Gastric antral vascular ectasia: maintenance treatment with oestrogen-progesterone. *Gut* 1992; 33(5): 715–7.
9. *Payen JL, Calès P, Voigt JJ, Barbe S, Pilette C, Dubuisson L, et al.* Severe portal hypertensive gastropathy and antral vascular ectasia are distinct entities in patients with cirrhosis. *Gastroenterology* 1995; 108(1): 138–44.
10. *Hisada T, Kuwabara H, Tsunoda T, Kaneko K, Kubota S, Miwa Y, et al.* Hereditary hemorrhagic telangiectasia showing severe anemia which was successfully treated with estrogen. *Intern Med* 1995; 34(6): 589–92.
11. *Sharma R, Gorbien MJ.* Angiodysplasia and lower gastrointestinal tract bleeding in elderly patients. *Arch Intern Med* 1995; 155(8): 807–12.
12. *Richardson JD.* Vascular lesions of the intestines. *Am J Surg* 1991; 161(2): 284–93.

Rad je primljen 8. IV 2008.





## ВОЈНОСАНИТЕТСКИ ПРЕГЛЕД

ВОЈНОМЕДИЦИНСКА АКАДЕМИЈА

Црнотравска 17, 11040 Београд, Србија

Тел/факс: +381 11 2669689

[vmaini1@eunet.yu](mailto:vmaini1@eunet.yu)

[vmaini2@eunet.yu](mailto:vmaini2@eunet.yu)

### ПОЗИВ НА ПРЕТПЛАТУ ЗА 2008. ГОДИНУ

У прилици смо да вам понудимо претплату за 2008. годину на часопис „Војносанитетски преглед“, званични орган лекара и фармацеута Војске Србије.

Часопис „Војносанитетски преглед“ (ВСП) је научно-стручног карактера и објављује радове из свих области биомедицине и фармације. У ВСП-у радове равноправно објављују стручњаци из Војске Србије, из цивилних установа и из иностранства. Штампана се на српском и енглеском језику. Претплата је обавезна за све ауторе (и коауторе) радова прихваћених за објављивање у ВСП-у.

ВСП излази већ 75 година, а непрекидно од 1944. године до сада. Данас је ВСП једини часопис у земљи који излази месечно (12 бројева), на 100–120 страна А4 формата, а повремено се објављују и тематски додаци (суплементи) на српском или енглеском језику. Путем размене или претплате ВСП се шаље у 23 земље света. Радове објављене у ВСП-у индексирају: *Science Citation Index Expanded (SCIE)*, *Journal Citation Reports/Science Edition*, *Index Medicus (Medline)*, *Excerpta Medica (EMBASE)*, *EBSCO* (преко ове базе ВСП је *on line* доступан од 2002. године у *pdf* формату) и *Biomedicina Serbica*. Садржаје ВСП-а објављују *Giornale di Medicina Militare* и *Revista de Medicina Militara*. Приказе оригиналних радова и изводе из садржаја објављује *International Review of the Armed Forces Medical Services*.

Годишња претплата за 2008. годину износи: 3 000 динара за грађане Србије, 6 000 динара за установе Србије и 9 000 динара (100 €) за стране држављане и установе. Средства се уплаћују на жиро рачун код Управе јавних плаћања у Београду број: **840-941621-02 ВМА (за Војносанитетски преглед или за ВСП), ПИБ 102116082 или на девизни рачун код Народне банке број: 54104-ознака валуте-549**. Уплатницу (доказ о уплати) доставити лично или поштом (писмом, факсом, *e-mail*-ом) на адресу: Војносанитетски преглед, Црнотравска 17, 11000 Београд; тел/факс: 011 2669689, *e-mail*: [vmaini1@eunet.yu](mailto:vmaini1@eunet.yu) или [vmaini2@eunet.yu](mailto:vmaini2@eunet.yu). За запослене у Војсци Србије омогућена је претплата у 12 месечних рата путем трајног налога, тј. „одбијањем од плате“. Попуњен и оверен образац, штампан на последњим страницама часописа, заинтересовани шаљу на адресу ВСП-а.



## Bartolomeo Eustahije – pisac prvog štampanog dela zubne medicine

### Bartolomeo Eustachius – the author of the first published book on dental medicine

Dragan V. Ilić \*, Pavle Jović†, Vesna Danilović‡

Stomatološki fakultet, \*Klinika za bolesti zuba, †Institut za histologiju, Beograd;  
Medicinska škola Zvezdara, Beograd

#### Ključne reči:

istorija, 16. vek; medicina; stomatologija; biografija, osobe, poznate; italija.

#### Key words:

history, 16th century; medicine; oral medicine; biography, famous persons; italy.

#### Uvod

Mnogo godina posle antičkih Grka i Italijani su počeli da posmatraju svet novim, ispitivačkim očima. Ranije, u srednjem veku, naučno poznavanje sveta izgledalo je manje važno nego teologija i filozofija. Stoga, ljudi srednjeg veka, često su se zadovoljavali fantastičnim i ponekad metafizičkim objašnjenjima realnog sveta. Međutim, tokom renesanse, sve veće iskustvo istraživača povećavalo je broj podataka o mnogim pitanjima iz prirodnih nauka. Oduševljeni tim novim saznanjima i sve većim poverenjem u moć rasuđivanja, mislioci su počeli da ispituju novo znanje, poredeći ga sa starim. Kad im je razum pokazivao da su stare činjenice netačne, oni su ih hrabro odbacivali, uprkos stavovima crkve.

Ova raznolikost njihovog interesovanja govori o žedi za znanjem, koja je stimulisala ljude tokom renesanse u Italiji da se kreću putem napretka. I konačno, kada je Italija ponela steg i uzdigla ga visoko, cela Evropa se ubrzo našla pod njim. U znamenite naučnike-istraživače koji su obeležili XVI i XVII vek ne samo italijanske već i svetske medicine, svakako da se mogu ubrojiti i Leonardo da Vinči, Malpigi, Vezalijus i drugi. Posebno mesto u tom periodu zauzima i Bartolomeo Eustahije (staroitalijanski naziv Bartholomaeus Eustachius, a novoitalijanski naziv Bartolomeo Eustachi) koji je slavu stekao svojim istraživanjima u oblasti anatomije usne duplje (slika 1). Svakom lekaru na planeti poznat je po epinimu Eustahijeva tuba (*tuba auditiva Eustachii*) koja je inspirisala Šekspira da taj detalj unese u tragediju „Hamlet“ u kojoj Hamletov otac umire nakon sipanja otrova u uvo.

Stručni i naučni rad Bartolomeo Eustahije, o kome se inače vrlo malo i dosta neprecizno zna, rođen je u San Severinu, gradiću srednjejadranskog italijanskog priobalja oblasti



Sl. 1 – Portret Bartolomea Eustahija iz mladih dana

Marche, blizu Ankone. Živeo je i stvarao u doba pozne renesanse i ranog baroka, u vreme procvata sveopšte kulture i nauke, a naravno i medicine, na tlu današnje Italije. Posmatrano sa aspekta medicinske nauke, živeo je i stvarao između 1520. i 1574. godine, odnosno između Leonarda da Vinčija i Pijera Fošara, dva velikana na polju stomatologije<sup>1</sup>. Kao izvor citiranja njegove godine rođenja, Čerčilov medicinski rečnik enciklopedijskog tipa, navodi 1524. godinu, dok italijansko izdanje „Istorije medicine“ beleži 1510. godinu, a Kostić 1520. godinu<sup>2-4</sup>. Skribnersa smešta godinu rođenja negde u periodu između 1500. i 1510.<sup>5</sup>. S obzirom na kasnije utvrđene i zabeležene značajne činjenice i godine u Eustahijevom životu, izgleda da hronološki najviše odgovara kao godina rođenja 1510. Međutim, sva tri izvora se slažu da je 27. avgust 1574. godina tačan datum smrti ovog naučnika, jer je verovatno da njegova smrt nije mogla ostati nezapažena u sredini u kojoj je živeo, pa i šire.

Verovatno ugledom na oca, lekara Mariana Eustahija iz uvažene porodice, upisao je i završio studije medicine u Rimu (*Archiginnasio della Sapienza* – filozofski institut). Nakon „rinskog perioda“, vratio se u rodno mesto gde je živeo i radio kao lični lekar mesnog vojvode od Urbina od 1539. do 1549. godine. Vojvoda je zapazio Bartolomeov talenat, te ga je preporučio svome bratu, kardinalu Đuliju od Rovere, za ličnog lekara. Po dolasku u Rim, ovaj kardinal posredovao je pri postavljenju Bartolomea za profesora na Rimskom univerzitetu na Katedri za anatomiju. Ovako visok položaj omogućavao mu je da se bavi istraživačkim radom, naročito na polju seciranja tkiva i organa na kadaverima u bolnici „Svetog duha i utehe“ (*Santo Spirito et Consolazione*). Zabeleženo je da je saradivao sa istaknutim istraživačima iz oblasti medicine toga doba, Falopijem i Andreasom Vezalijusom.

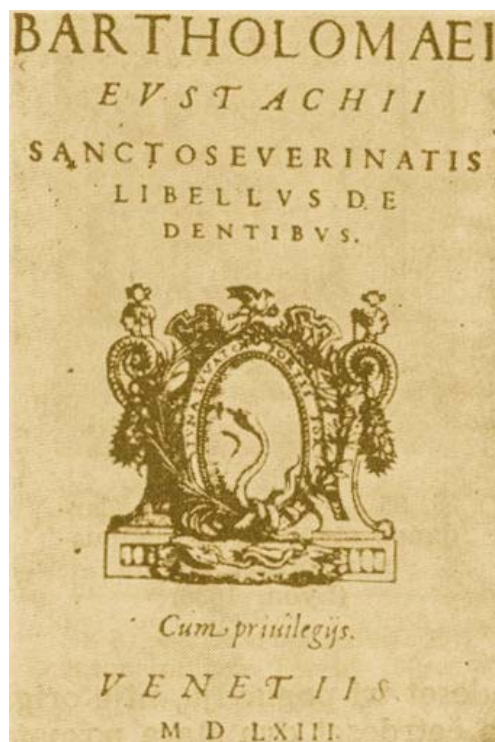
Istoriografi beleže podatak da se, pored maternjeg, italijanskog, služio još i latinskim, grčkim i arapskim jezikom i da je jedno vreme studirao filozofiju. Poznavanje grčkog jezika omogućilo mu je da 1556. ili 1566. godine prevede i objavi Hipokratovo delo „Rečnik erotizma“. Sa arapskog je preveo Avicenin delo „Medicinski zakonik“. Brojna zapažanja iz oblasti anatomije čoveka dao je u delu *Opuscola anatomica*, izdatom u Veneciji 1564. godine. Za života napisano delo *Tabulae anatomicae* ili „Anatomske gravire“ („Slike iz anatomije čoveka“ kako neki istoriografi beleže), štampano je posthumno u potpunosti tek daleke 1714. godine u Rimu. Knjiga *Libellus de dentibus* sadrži neke od ovih ilustracija u vezi anatomije i histologije vilica i zuba<sup>5-8</sup>.

Pored naučnog rada bavio se lekarskim pozivom, naročito hirurģijom, a posebno se zanimao za ispitivanja na polju anatomije i histologije. U medicini su zabeležena njegova dva značajna otkrića – atomska detalja, koja su i dobila ime po njemu, a to su: *tuba auditiva seu tuba eustachii* odnosno Eustahijeva tuba, kao i zalistak donje šuplje vene – *valvula venae cavae inferioris seu valvula Eustachii*. Međutim, zbog „smelih zahvata“ koje je primenio pri disekcijama zahirao je da ne bude izopšten iz katoličke crkve, iako je bio u dobrim odnosima sa njom.

### *Libellus de dentibus* – Knjiga o zubima

Da bismo shvatili značaj tehnike uočavanja i metodu opisivanja sitnih detalja tkiva, koje je Bartolomeo Eustahije primenjivao, neophodno je podsetiti se vremena kada se to dešavalo. Iako se smatra da je Holanđanin Jansen iz Middelburga konstruktor prvog mikroskopa, negde oko 1595. godine, više decenija ranije, Eustahije je uspeo da, verovatno samo vizuelnom studioznom opservacijom, uoči i detaljno opiše važne atomske detalje i morfološke varijetete zuba i vilica. To je učinio u svom najznačajnijem delu iz oblasti dentalne anatomije, tzv. histološkoj knjizi o zubima *Libellus de dentibus*<sup>8-10</sup> (slika 2).

Ova „Knjiga o zubima“, iako napisana u okviru dela *Opuscola anatomica* izdatog u Veneciji 1564. godine, ima poseban naslov i paginaciju, koja datira iz 1563. godine. Kao takva, *Libellus de dentibus* štampana je u dopunjenom izdanju kasnije, početkom XVIII veka.



Sl. 2 – Naslovna strana *Libellus de dentibus*, Venecija 1563. god.

Ilustracije za knjigu (oko 86) uradene su 1552. godine od strane slikara Matea Pinija u koga je Eustahije imao veliko poverenje. Ta knjiga objavljena je u Veneciji tek 1563. godine na 152 strane (ali bez zagubljenih 39 atomskih slika). Ostaje otvoreno pitanje da li je, pišući ovo delo, do nalaža dolazio samo vizuelnim posmatranjem ili se služio lupom i da li je, u to vreme, lupa uopšte postojala u njegovom geografskom okruženju. Smatra se da rana italijanska, odnosno evropska dentalna histološka literatura, počinje upravo ovim značajnim radom<sup>1</sup>. U ovom delu ilustracije na licu i poledini bakarnih ploča ugravirao je Đulijo de Musija iz Rima. One su plod istraživanja na zubima fetusa. Ne zna se tačno da li se pri istraživanjima tkiva usne duplje Bartolomeo Eustahije pozivao na saznanja prethodnika i savremenika koji su ostavili bogat opus literature o stomatologiji i da li su mu ta dela uopšte bila dostupna. Među njima, najznačajnija su dela Leonarda da Vinčija i Andreea Vezalijusa.

Prvo poglavlje knjige govori uopšteno o oblicima i funkciji zuba, kao i o njihovoj ulozi u digestivnom sistemu. Sa aspekta atomske građe zuba zapažaju se detalji kao što su „čvrsto spoljašnje tkivo i unutrašnja meka građa“. Zube razvrstava po funkciji i gradi na sekače i one koji žvaću. Klasifikuje ih na prednje (sekutiće i oćnjake) i zadnje (pretkutnjake i kutnjake). Istoričari medicine u ovom poglavlju nalaze da je Eustahije pokušavao da objasni osetljivost čvrstog zubnog tkiva.

U drugom poglavlju opisuje se „život zuba“ – nicanje i period od izbijanja mlečnih do nicanja stalnih, sa specifičnostima i tegobama vezanim za ovaj period. Ovde Eustahije opisuje zanimljivu pojavu resorpcije mlečnih zuba, ispadanje i simptome vezane za ovaj period, takođe, i pravilnosti i npravilnosti u redosledu nicanja.

Treće poglavlje obrađuje pojave vezane za izbijanja stalnih zuba i period do završetka njihovog razvoja. Kod stalnih zuba opisuje proces karijesa i trošenja čvrstog zubnog tkiva.

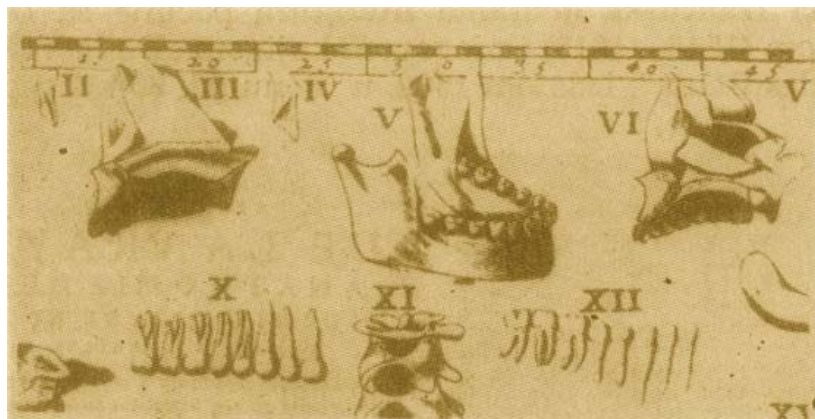
Poslednje, četvrto poglavlje, opisuje period zuba od završetka formiranja korena do ispadanja stalnih zuba „usled bolesti ili drugih razloga“. Kao razloge za gubitak zuba, među mnogobrojnim faktorima, kao najvažnije navodi: truljenje zuba (karijes) i oboljenje potpornog tkiva zuba (parodontopatiju).

Kod infekcija usne duplje, Bartolomeo Eustahije pretpostavio je vezu oticanja limfnih čvorova i mekog tkiva tih regija, zbog čega je anatomski detalj, Eustahijevo jastuče dobilo naziv po ovom istraživaču<sup>10</sup>. Proučavao je krepitacije viličnog zgloba pokušavajući da nađe uzrok kod bolesnika koji nisu imali tegobe vezane za sam zglob. Ne zna se tačno da li je ove krepitacije dovodio u vezu sa gubitkom bočnih zuba i spuštanjem zagrižaja.

„Knjiga o zubima“ detaljno obrađuje varijacije inervacije i vaskularizacije gornje i donje vilice i svih morfoloških grupa zuba, a sve je predstavljeno detaljnim crtežima – anatomskim pločama. Na njima su jasno nacrtani detalji mišića lica (četnaesta ploča), kosti regiona lica i vilica, specifičnosti svih morfoloških grupa zuba, kao i potporni aparat zuba (slika 3).

anatomije i medicinskim krugovima na tlu tadašnje Italije. Koliko je ova knjiga bila savremena, kvalitetna i tražena u medicinskim krugovima, govore i podaci o njenim izdanjima koja su potom usledila: 1744. godine Kajetano Pertriolo je zaslužan za ponovljeno izdanje iz 1714. godine, a Bernarda Zigfrida Albinusa za ono iz 1790. u Bonu<sup>10</sup>.

Činjenica da su ove ilustracije bile zagubljene vek i po nameće pretpostavku da bi istraživanja u anatomiji dostigla svoju zrelost mnogo ranije, a plejadi naučnika omogućena napredna istraživanja iz oblasti dentalne anatomije i histologije. Potvrdu o preciznosti Bartolomeovih istraživanja daje naučnik Lorenzo Belini, čitavih stotina godina kasnije, koji je, verovatno koristeći mikroskop, vršio komparativna istraživanja tkiva životinja i čoveka. On mu je odao veliko priznanje za istraživanja iz oblasti rasta i razvoja zubnog tkiva. Iako se pouzdano zna za postojanje naočara, ne postoje pisani dokumenti da se Bartolomeo služio uveličavajućim staklom – lupom. Verovatno da jeste, jer se drugačije ne mogu objasniti nalazi do kojih je došao u vezi tako sitnih detalja na ispitivanom tkivu. Takođe, ne zna se da li su Bartolomeu bili dostupni anatomske crteži i histološka saznanja Leonarda da Vinčija s kraja XV i početkom XVI veka, za koga se pouzdano zna da je koristio uveličavajuća stakla u ispitivanjima iz oblasti optike (ne postoje dokazi da je Leonardo da Vinči upotrebljavao sočiva prilikom istraživanja u medicini)<sup>6</sup>.



Sl. 3 – Detalj iz poglavlja o histologiji zuba<sup>11</sup>

Sitne detalje ispitivanog tkiva i organa, koje nije mogao jasno razlučiti i nacrtati, Bartolomeo je prethodno podvrgavao histološkim tehnikama: maceraciji (potapanju u različite rastvore), dehidraciji – sušenju i bojenju<sup>8</sup>. Postoje podaci da je nedovoljno jasno tkivo, prethodno histološki tretirano, podvrgavao procesu ubrizgavanja kontrastnih supstancija, verovatno različitih boja, koje su imale afinitet za pojedino tkivo<sup>10</sup>.

Knjiga je početkom XVIII veka obogaćena pronadenim ilustracijama – pločama, njih 39. Iste su pronadene kod potomka Bartolomeovog rođaka Piera Matea Pinija, kome su one ostavljene u nasledstvo. Zaslugu za pronalaženje ilustrovanih ploča dugujemo čuvenom anatomu tog doba Marčelu Malpigiju (1628–1694) koga većina histologa smatra ocem histologije. Uvidevši njihov značaj, Lančizi, šef Katedre za anatomiju u Rimu na Sapienza univerzitetu, objavio ih je 1714. godine, što mu je obezbedilo zavidno mesto u istoriji

## Zaključak

Iako se može reći da su umetničke, slikarske tačke gledišta, kao i preciznosti anatomske detalja, crteži u Bartolomeovoj knjizi nisu tako dobro urađeni kao „anatomske ploče“ njegovog savremenika i zemljaka Andreasa Vezalijusa, za *Libellus de dentibus* može se tvrditi da predstavlja polazno, prvo štampano i osnovno delo u istoriji stomatologije, koje govori detaljno o građi i funkciji tkiva i organa usne duplje. Zbog preciznosti koju je unosi u svoja istraživanja anatomije i histologije usne duplje mnogi istraživači XVII i XVIII veka su mu nadenuli epitet „drugi Vezalijus“. Na ovom delu su se usavršavale potonje generacije, a služilo je i za dublja istraživanja i praktičnu primenu, čime je otvoren put velikim dostignućima naučnicima u veku koji je sledio.

## L I T E R A T U R A

1. *Gavrilović V.* History of dentistry. Belgrade: Medicinska knjiga; 1986. (Serbian)
  2. *Churchill Livingstone Inc.* Churchill's medical dictionary. New York: Churchhill Livingstone; 1989.
  3. *Armocida G, Bicheno E, Fox B.* Storia della medicina, Milano: Jaca Book; 1993. (Italian)
  4. *Kostić A.* Medical dictionares. Beograd: Medicinska knjiga; 1956, (Serbian)
  5. *Cilliespie CC, Holmes FZ,* editors. Dictionary of scientific biography. New York: Charles Scribnes Sonse; 1971.
  6. Contemporary Illustrated Encyclopedia. Science: Chemistry, Physico, Astronomy. Popović M, ed. Vuk Karadžić, Belgrade: 1967. (Serbian)
  7. *Pickett JP,* editor. Mifflin: The American Hearitage, Dictionary of the English Lanynage. 4th ed. Boston: Houghton Mifflin; 2000.
  8. *Historica.* Millenium House, PTY, LTD, Australia; 2006. p. 108. (English)
  9. *Bumbaširević V.* Histology. Beograd: Medicinski fakultet; 2005. (Serbian)
  10. *Roberts KB.* Eustachius and his anatomical plates. Newsletter of the Candian Society for the History of Medicine 1979; 9–13.
  11. *Gavrilović SV.* History of dentistry. Belgrade: Medicinska knjiga; 1969. (Serbian)
- Rad je primljen 5. III 2008.



## A remark on the clinical experience in treatment of hypertensive patients

### Osvrt na kliničko iskustvo u lečenju bolesnika sa hipertenzijom

Predrag Pavlović

Military Medical Academy, Department of Cardiology, Belgrade

A hypertensive patient: "What a big deal!", every clinician would say. Fine, but what happens if the doctor and the therapy he administers to a patient makes him feel "worse" than he was before coming to the doctor, despite the fact that the results of a therapy are excellent, and the doctor is more than pleased with the outcomes of the treatment? In other words, the situation looks like this: on one side you have a satisfied doctor and a very unhappy patient on the other one, who feels "unhealthy" because of the effect of the doctor's influence on him. Have you ever had such a case? So, let us see what we can do about this.

Putting aside the worldwide known, accepted and clinically used, classification of hypertension, let us consider the following classification:

- the "cat-walk" (moderate) hypertension without symptoms ( $\leq 150/95$  mmHg);
- patients with serious hypertension with symptoms (headaches, dizzy spells, chest pain, nausea, etc);
- patients with serious hypertension without symptoms.

The question is how these groups react to the prescribed therapy.

Having moderate hypertension and no side effects of the disease, patients from the first group will listen to the doctor, take medications as prescribed and advised, come to check-ups as planned and feel fine. Why? Because they will not register the positive effect of the medication except the doctor's conclusion that the arterial blood pressure is normalised at the first place. The result: both sides are satisfied.

Patients from the second group are "nice and thankful" a bunch to deal with. Once they decide to come to the doctor ("no more headaches, please!") and once they start taking the prescribed medications, their dreadful symptoms go away with the fact, actually doctor's findings, of normalised blood pressure. Such patients will gratefully listen to the doctor's advices, take medications regularly and insist on control check-ups. The result: again, both sides are satisfied.

Now, here is the hard part: patients from the third group. Over months/years, before coming to the doctor, their cardiovascular system is used to register abnormal blood pressure as a normal condition, so they have no symptoms. Once coming to the doctor, and after starting the therapy, what happens? Their blood pressure is fine, finally normalised, but they do not feel well because their bodies detect changes not used to. So, such patients will, paradoxically, feel all the negative effects of high blood pressure mentioned before, despite the fact that their condition, looking from the doctor's point of view, is satisfactory. The result: patients stop taking medications, return "to the good, old, so used to" hypertensive condition, with the key thought in their minds: I come for help, and the offered help made me feel worse, actually bad, or in real tough cases: What's wrong with that doctor - he tries to make me sick! The final result: satisfied doctor and a very unsatisfied and "still sick" patient.

So, what is the solution for the third group of patients?

Talk with them, explain, talk with them, explain, over and over again until reaching the point of their final persuasion that they must start, and even more important – continue taking the prescribed medications, simply ignoring the "worsened" state they are in. The point of explanation is that we make them aware of the fact that it takes some time for their body to adjust to a new state, and allow it to register normal blood pressure as really normal, compared to the premedication period where abnormal was "normal". It takes a lot of doctor's patience and patient's will (is "obedience" the word?) to listen to and accept the offered explanation. Only after that, we have the results we wish: both sides satisfied.

Think about it. After all, it's only medicine.

Assist. Prof Predrag Pavlovic, MD  
Clinic of Cardiology  
Military Medical Academy, Belgrade, Serbia



**ВОЈНОСАНИТЕТСКИ ПРЕГЛЕД**  
ВОЈНОМЕДИЦИНСКА АКАДЕМИЈА  
Црнотравска 17, 11040 Београд, Србија  
Тел/факс: +381 11 2669689  
[vmaini1@eunet.yu](mailto:vmaini1@eunet.yu)  
[vmaini2@eunet.yu](mailto:vmaini2@eunet.yu)

### Позив на рекламирање у 2008. години

У прилици смо да вам понудимо могућност оглашавања и рекламирања производа и услуга у часопису „Војносанитетски преглед“ (ВСП). То је сигурно најбољи вид и најзаступљенији начин упознавања евентуалних корисника са вашим услугама и производима.

Часопис „Војносанитетски преглед“, званични орган лекара и фармацеута Војске Србије, научно-стручног је карактера и објављује радове из свих области биомедицине и фармације. Радове равноправно објављују стручњаци из војних и цивилних установа и из иностранства. Штампана се на српском и енглеском језику. Часопис излази већ 75 година, а непрекидно од 1944. године до сада. Једини је часопис у земљи који излази месечно (12 бројева), на око 100 страна А4 формата, а повремено се објављују и тематски додаци (суплементи). Путем размене или претплате ВСП се шаље у 23 земље света. Радове објављене у ВСП-у индексирају: *Science Citation Index Expanded (SCIE)*, *Journal Citation Reports/Science Edition*, *Index Medicus (Medline)*, *Excerpta Medica (EMBASE)*, *EBSCO* (преко ове базе ВСП је *on line* доступан од 2002. године у *pdf* формату) и *Biomedicina Serbica*.

Цене реклама и огласа у часопису „Војносанитетски преглед“ у 2008. години су:

1.	Оглас у црно-белој техници А4 формата за један број	15 000,00 динара
2.	Оглас у ц/б техници А4 формата за целу годину (11-12 бројева)	150 000,00 динара
3.	Оглас у боји А4 формата за један број	25 000,00 динара
4.	Оглас у боји А4 формата за целу годину (11-12 бројева)	250 000,00 динара
5.	Оглас у боји на корицама К3 за један број	35 000,00 динара
6.	Оглас у боји на корицама К3 за целу годину (11-12 бројева)	350 000,00 динара
7.	Оглас у боји на корицама К2 и К4 за један број	40 000,00 динара
8.	Оглас у боји на корицама К2 и К4 за целу годину (11-12 бројева)	400 000,00 динара

За сва објашњења, упутства и понуде заинтересовани контактирају редакцију часописа „Војносанитетски преглед“. Средства се уплаћују на жиро рачун код Управе јавних плаћања у Београду број: 840-941621-02 **ВМА (за Војносанитетски преглед или за ВСП), ПИБ 102116082**. Уплатницу (доказ о уплати) доставити лично или поштом (писмом, факсом, *e-mail*-ом) на адресу: Војносанитетски преглед, Црнотравска 17, 11000 Београд; тел/факс: 011 2669 689, *e-mail*: [vmaini1@eunet.yu](mailto:vmaini1@eunet.yu) или [vmaini2@eunet.yu](mailto:vmaini2@eunet.yu)

## UPUTSTVO AUTORIMA

Vojnosanitetski pregled (VSP) objavljuje radove koji ranije nisu nigde publikovani, niti predati za publikovanje redosledom koji određuje uređivački odbor. Uz rad, na posebnom listu, treba dostaviti: izjavu da rad do sada nije (ili je delimično) objavljen ili prihvaćen za štampu u drugom časopisu; potpise svih koautora; ime, tačnu adresu, brojeve telefona (fiksne, mobilne, faks), *e-mail* adresu, kao i kopiju dokaza o pretplati na časopis za sve autore (i koautore). Za objavljene radove VSP zadržava autorsko pravo.

Radove slati na adresu: Vojnosanitetski pregled Vojnomedicinska akademija, Institut za naučne informacije, Cmotravska 17, 11040 Beograd.

U VSP-u se objavljuju **uvodnici, originalni članci, prethodna ili kratka saopštenja**, revijski radovi tipa **opšteg pregleda, aktuelne teme ili metaanalize, kazuistika**, članci iz **istorije medicine**, lični stavovi, naručeni komentari, pisma uredništvu, izveštaji sa naučnih i stručnih skupova, prikazi knjiga, referati iz naučne i stručne literature i drugi prilozi.

Radove tipa opšteg pregleda Uredništvo će prihvatiti samo ukoliko autori navođenjem najmanje 5 autocitata potvrde da su eksperti u oblasti o kojoj pišu.

Radovi se objavljuju na srpskom ili engleskom jeziku sa apstraktima na srpskom i engleskom, za radove tipa originalnih članaka, prethodnih ili kratkih saopštenja, metaanalize i kazuistike. Odabrani članci objavljuju se u celini na engleskom jeziku sa apstraktom na srpskom.

Rukopis se piše pomoću IBM-PC kompatibilnog računara, sa proredom 1,5. Štampa se na laserskom ili nekom drugom visokokvalitetnom štampaču, uredno i bez ispravki, na čistoj beloj hartiji formata A4, sa levom marginom od 4 cm. Koristiti font veličine 12, a načelno izbegavati upotrebu **bold** i *italic* slova, koja su rezervisana za podnaslove. Originalni članci, opšti pregledi i metaanalize ne smeju prelaziti 16 stranica (sa prilogima); aktuelne teme – osam, kazuistika – šest, prethodna saopštenja – pet, a pisma uredniku, izveštaji sa skupova i prikazi knjiga – dve stranice.

U celom radu obavezno je korišćenje međunarodnog sistema mera (SI) i standardnih međunarodno prihvaćenih termina.

Radove (tekst i grafičke priloge) treba slati na disketi i štampane u tri primerka (original i dve kopije). Autori konačnu verziju rukopisa i priloga prihvaćenih za publikovanje predaju u jednom štampanom primerku i na disketi od 3,5" (očišćenju od „virusa“) ili na kompaktnom disku. Za obradu teksta koristiti program **Word for Windows** verzije 97, 2000, XP ili 2003, a samo izuzetno i neki drugi. Za izradu grafičkih priloga koristiti standardne grafičke programe za **Windows**, poželjno iz programskog paketa **Microsoft Office (Excel, Word Graph)**. Kod kompjuterske izrade grafika izbegavati upotrebu boja i senčenja pozadine.

Prispeli radovi kao anonimni podležu uređivačkoj obradi i recenziji najmanje dva urednika/recenzenata. Primedbe i sugestije urednika/recenzenata dostavljaju se autoru radi konačnog oblikovanja. Otisak članka šalje se prvom autoru na korekturu, koji treba vratiti u roku od pet dana. Rukopisi radova prihvaćenih za štampu ne vraćaju se autoru.

### Priprema rada

Delovi rada su: **naslovna strana, apstrakt sa ključnim rečima, tekst i literatura.**

#### 1. Naslovna strana

a) Naslov treba da bude kratak, jasan i informativan i da odgovara sadržaju rada. Podnaslove treba izbegavati.

b) Ispisuju se puna imena i prezimena autora.

c) Navode se puni nazivi ustanove i organizacijske jedinice u kojima je rad obavljen i mesta u kojima se ustanove nalaze, sa jasnim obeležavanjem odakle je autor, koristeći standardne znake za fus-note.

#### 2. Apstrakt i ključne reči

Na drugoj stranici nalazi se strukturisani apstrakt sa naslovom rada. Kratkim rečenicama na srpskom i engleskom jeziku iznosi se **uvod i cilj** rada, osnovne procedure - **metode** (izbor ispitanika ili laboratorijskih životinja; metode posmatranja i analize), glavni nalazi - **rezultati** (konkretni podaci i njihova statistička značajnost) i glavni **zaključak**. Naglasiti nove i značajne aspekte studije ili zapažanja. Strukturisani apstrakt (**250** reči) ima podnaslove: *uvod/cilj, metode, rezultati i zaključak*. Za apstrakte na engleskom dozvoljeno je i do **450** reči. Strukturisani apstrakt je obavezan za metaanalize (istog obima kao i za originalne članke) i kazuistiku (do 150 reči, sa podnaslovima *uvod, prikaz slučaja i zaključak*). Ispod apstrakta, pod podnaslovom „Ključne reči“ predložiti 3–10 ključnih reči ili kratkih izraza koji oslikavaju sadržinu članka.

#### 3. Tekst članka

Tekst sadrži sledeća poglavlja: **uvod, metode, rezultate i diskusiju. Zaključak** može da bude posebno poglavlje ili se iznosi u poslednjem

pasusu diskusije. U **uvodu** ponovo napisati naslov rada, bez navođenja autora. Navesti hipotezu (ukoliko je ima) i ciljeve rada. Ukratko izneti razloge za studiju ili posmatranje. Navesti samo strogo relevantne podatke iz literature i ne iznositi opširna razmatranja o predmetu rada, kao ni podatke ili zaključke iz rada o kome se izveštava.

**Metode.** Jasno opisati izbor metoda posmatranja ili eksperimentalnih metoda (ispitanici ili eksperimentalne životinje, uključujući kontrolne). Identifikovati metode, aparaturu (ime i adresa proizvođača u zagradi) i proceduru, dovoljno detaljno da se drugim autorima omogući reprodukcija rezultata. Navesti podatke iz literature za uhodane metode, uključujući i statističke. Tačno identifikovati sve primenjene lekove i hemikalije, uključujući generičko ime, doze i načine davanja. Za ispitivanja na ljudima i životinjama navesti saglasnost etičkog komiteta.

**Rezultate** prikazati logičkim redosledom u tekstu, tabelama i ilustracijama. U tekstu naglasiti ili sumirati samo značajna zapažanja.

U **diskusiji** naglasiti nove i značajne aspekte studije i izvedene zaključke. Posmatranja dovesti u vezu sa drugim relevantnim studijama, u načelu iz poslednje tri godine, a samo izuzetno i starijim. Povezati zaključke sa ciljevima rada, ali izbegavati nesumnjive tvrdnje i one zaključke koje podaci iz rada ne podržavaju u potpunosti.

### Literatura

Literatura se u radu citira kao superskript, a popisuje rednim brojevima pod kojima se citat pojavljuje u tekstu. Navode se svi autori, ali ako broj prelazi šest, navodi se prvih šest i dodaje et al. Svi podaci o citiranoj literaturi moraju biti tačni. Literatura se u celini citira na engleskom jeziku, a iza naslova se navodi jezik članka u zagradi. Ne prihvata se citiranje apstrakata, sekundarnih publikacija, usmenih saopštenja, neobjavljenih radova, službenih i poverljivih dokumenata. Radovi koji su prihvaćeni za štampu, ali još nisu objavljeni, navode se uz dodatak „u štampi“. Rukopisi koji su predati, ali još nisu prihvaćeni za štampu, u tekstu se citiraju kao „neobjavljeni podaci“ (u zagradi). Podaci sa *Interneta* citiraju se uz navođenje datuma.

### Primeri oblika referenci:

*Durović BM.* Endothelial trauma in the surgery of cataract. *Vojnosanit Pregl* 2004; 61(5): 491–7. (Serbian)

*Balint B.* From the haemotherapy to the haemomodulation. Beograd: Zavod za udžbenike i nastavna sredstva; 2001. (Serbian)

*Mladenović T, Kandolf L, Mijušković ŽP.* Lasers in dermatology. In: *Karadaglić D*, editor. *Dermatology*. Beograd: Vojnoizdavački zavod & Verzal Press; 2000. p. 1437–49. (Serbian)

*Christensen S, Oppacher F.* An analysis of Koza's computational effort statistic for genetic programming. In: *Foster JA, Lutton E, Miller J, Ryan C, Tettamanzi AG*, editors. *Genetic programming*. EuroGP 2002: Proceedings of the 5th European Conference on Genetic Programming; 2002 Apr 3–5; Kinsdale, Ireland. Berlin: Springer; 2002. p. 182–91.

*Aboud S.* Quality improvement initiative in nursing homes: the ANA acts in an advisory role. *Am J Nurs [serial on the Internet]*. 2002 Jun [cited 2002 Aug 12]; 102(6): [about 3 p.]. Available from: <http://www.nursingworld.org/AJN/2002/june/Wawatch.htm>

### Tabele

Sve tabele štampaju se sa proredom 1,5 na posebnom listu hartije. Obeležavaju se arapskim brojevima, redosledom pojavljivanja, u desnom uglu (**Tabela 1**), a svakoj se daje kratak naslov. Objašnjenja se daju u fus-noti, ne u zaglavlju. Za fus-notu koristiti sledeće simbole ovim redosledom: \*, †, ‡, §, ||, ¶, \*\*, ††, ... . Svaka tabela mora da se pomene u tekstu. Ako se koriste tuđi podaci, obavezno ih navesti kao i svaki drugi podatak iz literature.

### Ilustracije

Slikama se zovu svi oblici grafičkih priloga i predaju se u tri primerka i na disketi (CD). Fotografije treba da budu oštre, na glatkom i sjajnom papiru, do formata dopisnice. Slova, brojevi i simboli treba da su jasni i ujednačeni, a dovoljne veličine da prilikom umanjivanja budu čitljivi. Na svakoj slici treba na poledini, tankom grafitnom olovkom, označiti broj slike, ime prvog autora i gornji kraj slike. Slike treba obeležiti brojevima, onim redom kojim se navode u tekstu (**Sl. 1; Sl. 2** itd.). Ukoliko je slika već negde objavljena, obavezno citirati izvor.

Legende za ilustracije pisati na posebnom listu hartije, koristeći arapske brojeve. Ukoliko se koriste simboli, strelice, brojevi ili slova za objašnjenje pojedinog dela ilustracije, svaki pojedinačno treba objasniti u legendi. Za fotomikrografije navesti unutrašnju skalu i metod bojenja.

### Skraćenice i simboli

Koristiti samo standardne skraćenice, izuzev u naslovu i apstraktu. Pun naziv sa skraćenicom u zagradi treba dati kod prvog pominjanja u tekstu.

**Detaljno uputstvo može se dobiti u redakciji.**



## INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Vojnosanitetski preglad (VSP) publishes only previously neither published nor submitted papers in any other journals in the order determined by the Editorial Board. The following should be enclosed with the manuscript: a statement that the paper has not been submitted or accepted for publication elsewhere; a consent signed by all the authors that the paper could be submitted; the name, exact address, phone number, and e-mail address of the first author and co-authors. VSP reserves all copyrights.

Papers should be sent to: Military Medical Academy, Institute for Scientific Information, Crnotravska 17, 11040 Belgrade, Serbia & Montenegro, for "Editorial Board of VSP."

VSP publishes: **editorials, original articles, short communications, reviews/meta-analyses, case reports**, from the **medical history** (general or military), personal views, invited comments, letters to the editor, reports from scientific meetings, book reviews, extensive abstracts of interesting articles from foreign language journals, and other contributions. Papers are published in Serbian or English with abstracts in both languages, and the selected ones fully in English for original articles, short communications, meta-analyses and case reports.

General review papers type will be accepted by the Editorial Board only if the authors prove themselves as the experts in the fields they write on by citing not less than 5 self-citations.

Papers should be written on IBM-compatible PC, using 12 pt font, and double spacing, and printed on the laser, or other high-quality printer without any corrections, on white bond paper ISO A4 (212×297 mm) with at least 4 cm left margin. **Bold** and *italic* letters should be avoided. Observational and experimental articles, reviews and meta-analyses, should not exceed 16 pages (including tables and illustrations); case reports – 6; short communications – 5; letters to the Editor, reports on scientific meetings and book reviews – 2.

All measurements should be reported in the metric system in terms of the International System of Units (SI). Standard, internationally accepted terms should be used. Papers should be submitted on a diskette (CD) in triplicate (original and two copies).

**Authors** are requested to submit the final version of manuscript approved for publishing with tables and illustrations on a 3.5" virus free diskette or a CD. **MS Word for Windows** (97, 2000, XP, 2003) is recommended for word processing; other programs are to be used only exceptionally. Illustrations should be made using standard **Windows** programs. Avoid the use of colors in graphs.

Papers are reviewed anonymously by at least two editors and/or invited reviewers. Remarks and suggestions are sent to the author for final composition. Galley proofs are sent to the first author for corrections that should be returned within 5 days. Manuscripts accepted for publication are not being returned.

### Preparation of manuscript

Parts of the manuscript are: **Title page; Abstract with key words; Text; References.**

#### 1. Title page

- The title should be concise but informative. Subheadings should be avoided;
- full name of each author;
- name and place of department(s) and institution(s) of affiliation, clearly marked by standard footnote signs.

#### 2. Abstract and key words

The second page should carry a structured abstract with the title for original articles, metaanalyses and case reports. The abstract should state the purposes of the study or investigation, basic procedures (selection of study subjects or laboratory animals; observational and analytical methods), main findings (giving specific data and their statistical significance, if possible), and the principal conclusions. It should emphasize new and important aspects of the study or observations. **Structured** abstract should contain typical subtitles: *background/aim, methods, results and conclusion*. The abstract for metaanalyses and original papers should have up to 450 words, and up to 150 words for case reports (with subtitles *background, case report, conclusion*). Below the abstract authors should provide, and identify as such, 3–10 key words or short phrases that will assist indexers in cross-indexing the article and will be published with the abstract.

#### 3. Text

The text of original articles is divided into sections with the headings: **Introduction, Methods, Results, and Discussion**. Long articles may need subheadings within some sections to clarify their content.

In the **Introduction** repeat the title of the article, excluding the names of authors. State the purpose of the article and summarize the rationale for the study or observation. Give only strictly pertinent references and do not include data or conclusions from the work being reported.

**Methods.** Describe your selection of the observational or experimental subjects (patients or experimental animals, including controls) clearly. Identify the methods, apparatus (manufacturer's name and address in parentheses), and procedures in sufficient detail to allow other workers to reproduce the results. Give references to established methods, including statistical methods. Identify precisely all drugs and chemicals used, with generic name(s), dose(s), and route(s) of administration. State the approval of the Ethics Committee for the tests in humans and animals.

**Results** should be presented in logical sequence in the text, tables and illustrations. Emphasize or summarize only important observations.

**Discussion** is to emphasize the new and important aspects of the study and the conclusions that result from them. Relate the observations to other relevant studies. Link the conclusions with the goals of the study, but avoid unqualified statements and conclusions not completely supported by your data.

### References

References should be superscripted and numbered consecutively in the order in which they are first mentioned in the text. **The references must be verified by the author(s) against the original document.** List all authors, but if the number exceeds 6, give 6 followed by et al. Do not use abstracts, secondary publications, oral communications, unpublished papers, official and classified documents. References to papers accepted but not yet published should be designated as "in press". Information from manuscripts not yet accepted should be cited in the text as "unpublished observations". References are cited according to the **International Committee of Medical Journal Editors. Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals. Ann Intern Med 1997; 126: 36–47. Updated October 2001.**

Examples of references:

*Jurhar-Pavlova M, Petlichkovski A, TrajkovD, Efinanska-Mladenovska O, Arsov T, Strezova A, et al.* Influence of the elevated ambient temperature on immunoglobulin G and immunoglobulin G subclasses in sera of Wistar rats. *Vojnosanit Pregl* 2003; 60(6): 657–612.

*DiMaio VJ.* Forensic Pathology. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press; 2001.

*Blinder MA.* Anemia and Transfusion Therapy. In: Ahya NS, Flood K, Paranjothi S, editors. *The Washington Manual of Medical Therapeutics*, 30th edition. Boston: Lippincot, Williams and Wilkins; 2001. p. 413-428.

*Christensen S, Oppacher F.* An analysis of Koza's computational effort statistic for genetic programming. In: *Foster JA, Lutton E, Miller J, Ryan C, Tettamanzi AG*, editors. Genetic programming. EuroGP 2002: Proceedings of the 5th European Conference on Genetic Programming; 2002 Apr 3-5; Kinsdale, Ireland. Berlin: Springer; 2002. p. 182-91.

*Aboud S.* Quality improvement initiative in nursing homes: the ANA acts in an advisory role. *Am J Nurs* [serial on the Internet]. 2002 Jun [cited 2002 Aug 12]; 102(6): [about 3 p.]. Available from: <http://www.nursingworld.org/AJN/2002/june/Wawatch.htm>

### Tables

Type each table double-spaced on a separate sheet. Number tables consecutively in the order of their first citation in the text in the upper right corner (**Table 1**) and supply a brief title for each. Place explanatory matter in footnotes, using the following symbols, in this sequence: \*, †, ‡, §, ||, ¶, \*\*, ††, ... . Each table has to be mentioned in the text. If you use data from another source, acknowledge fully.

### Illustrations

Figures are submitted in triplicate, and for the final version also on diskette/CD. Photos should be sharp, glossy black and white photographic prints, not larger than 203 × 254 mm. Letters, numbers, and symbols should be clear and even throughout and of sufficient size that when reduced for publication, each item will still be legible. Each figure should have a label on its back indicating the number of the figure, author's name, and top of the figure. If a figure has been published, acknowledge the original source.

Legends for illustrations are typed on a separate page, with arabic numerals corresponding to the illustrations. Identify and explain each one clearly in the legend symbols, arrows, numbers, or letters used to identify parts of the illustrations. Explain the internal scale and identify the method of staining in photomicrographs.

### Abbreviations and symbols

Use only standard abbreviations. Avoid abbreviations in the title and abstracts. The full term for which an abbreviation stands should precede its first use in the text.



**VOJNOSANITETSKI PREGLED**  
VOJNOMEDICINSKA AKADEMIJA  
Crnotravska 17, 11040 Beograd, Srbija  
Tel/Fax: +381 11 2669689  
[vmaini1@eunet.yu](mailto:vmaini1@eunet.yu)  
[vmaini2@eunet.yu](mailto:vmaini2@eunet.yu)

Časopis „Vojnosanitetski pregled“ izlazi godišnje u 12 brojeva. Godišnja pretplata za 2008. godinu iznosi: 3 000 dinara za građane Srbije, 6 000 dinara za ustanove iz Srbije i 9 000 dinara (100 €) za strane državljane i ustanove. Sredstva se uplaćuju na tekući račun Vojnomedicinske akademije Beograd kod Uprave za javna plaćanja u Beogradu broj: **840-941621-02 VMA (za Vojnosanitetski pregled ili za VSP), PIB 102116082 ili na devizni račun kod Narodne banke broj: 54104-oznaka valute-549**. Uplatnicu (dokaz o uplati) dostaviti lično ili poštom (pismom, faksom, *e-mail*-om). Za zaposlene u MO i Vojsci Srbije moguća je i pretplata u 12 mesečnih rata putem trajnog naloga, tj. „odbijanjem od plate“. Popunjen obrazac poslati na adresu VSP-a.

### PRIJAVA ZA PRETPLATU NA ČASOPIS „VOJNOSANITETSKI PREGLED“

Ime i prezime ili naziv ustanove	
Jedinstveni matični broj građana	
Poreski identifikacioni broj (PIB) za ustanove	
Mesto	
Ulica i broj	
Telefon / telefaks	
Pretplata na časopis „Vojnosanitetski pregled“ (zaokružiti):	
1. Lično. Dokaz o pretplati dostavljam uz ovu prijavu.	
2. Za pripadnike MO i Vojske Srbije: Dajem saglasnost da se prilikom isplate plata u Računovodstvenom centru MO iz mojih prinadležnosti obustavlja iznos mesečne rate (preplate).	
3. Virmanom po prijemu profakture.	
Datum _____	Potpis _____



**VOJNOSANITETSKI PREGLED**  
VOJNOMEDICINSKA AKADEMIJA  
Crnotravska 17, 11040 Beograd, Srbija  
Tel/Fax: +381 11 2669689  
[vmaini1@eunet.yu](mailto:vmaini1@eunet.yu)  
[vmaini2@eunet.yu](mailto:vmaini2@eunet.yu)

Časopis „Vojnosanitetski pregled“ izlazi godišnje u 12 brojeva. Godišnja pretplata za 2008. godinu iznosi: 3 000 dinara za građane Srbije, 6 000 dinara za ustanove iz Srbije i 9 000 dinara (100 €) za strane državljane i ustanove. Sredstva se uplaćuju na tekući račun Vojnomedicinske akademije Beograd kod Uprave za javna plaćanja u Beogradu broj: **840-941621-02 VMA (za Vojnosanitetski pregled ili za VSP), PIB 102116082 ili na devizni račun kod Narodne banke broj: 54104-oznaka valute-549**. Uplatnicu (dokaz o uplati) dostaviti lično ili poštom (pismom, faksom, *e-mail*-om). Za zaposlene u MO i Vojsci Srbije moguća je i pretplata u 12 mesečnih rata putem trajnog naloga, tj. „odbijanjem od plate“. Popunjen obrazac poslati na adresu VSP-a.

### PRIJAVA ZA PRETPLATU NA ČASOPIS „VOJNOSANITETSKI PREGLED“

Ime i prezime ili naziv ustanove	
Jedinstveni matični broj građana	
Poreski identifikacioni broj (PIB) za ustanove	
Mesto	
Ulica i broj	
Telefon / telefaks	
Pretplata na časopis „Vojnosanitetski pregled“ (zaokružiti):	
1. Lično. Dokaz o pretplati dostavljam uz ovu prijavu.	
2. Za pripadnike MO i Vojske Srbije: Dajem saglasnost da se prilikom isplate plata u Računovodstvenom centru MO iz mojih prinadležnosti obustavlja iznos mesečne rate (preplate).	
3. Virmanom po prijemu profakture.	
Datum _____	Potpis _____

